Lek. med. Michał Hrab

Ocena przydatności monitorowania IL- 6 i CRP jako wskaźników prognostycznych u chorych poddanych nefrektomii z powodu raka nerki.

Praca doktorska

Promotor

Prof. dr hab. med. Zbigniew Kwias

Katedra i Klinika Urologii i Onkologii Urologicznej

Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. med. Zbigniew Kwias

Poznań 2011

Pragnę wyrazić serdeczne podziękowania
Panu Profesorowi Zbigniewowi Kwiasowi
za pomoc i życzliwość okazaną w trakcie
powstania tej pracy.

Serdecznie dziękuję
Panu Profesorowi Andrzejowi Mackiewiczowi
za cenne wskazówki, naukową inspirację
oraz umożliwienie wykonania badań
laboratoryjnych.

Szczególne podziękowania
Mojej żonie Karolinie
za cierpliwość, pomoc oraz wsparcie.

Mai i Ani

Spis skrótów użytych w tekście.

AJCC	Amerykańska Połączona Komisja do Spraw Raka
BOF	białka ostrej fazy
BSF-2	czynnik stymulujący limfocyty B2
Ca	wapń
CA IX	anhydraza węglanowa IX
cAMP	cykliczny adenozynomonofosforan
CDF	czynnik różnicowania limfocytów cytotoksycznych T
cDNA	sekwencja kodująca kwasu dezoksyrybonukleinowego
CRP	białko C-reaktywne
CRP-R	receptor białka C-reaktywnego
CSS	przeżycia związane z rakiem
CT-1	kardiotropina-1
DFS	przeżycie wolne od choroby
EAU	Europejskie Towarzystwo Urologiczne
EBV	wirus Epsteina-Bara
ECOG	Wschodnia Kooperatywna Grupa Onkologiczna
ELISA	test immunoenzymatyczny
EMA	antygen błony nabłonka
EORTG	Europejska Organizacja do Badań i Leczenia Raka
EpCAM	czynnik przylegania komórek nabłonka
FLT-3	gen kodujący kinazę tyrozynową
G	stopień złośliwości komórkowej nowotworu
GMCSF	czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów-makrofagów
HIF	czynnik wywołany niedotlenieniem tkanek
HIFU	ablacja zorganizowaną wiązką ultradźwiękową
HRP	peroksydaza chrzanowa
HSF	czynnik stymulujący hepatocyty
IgA	immunoglobulina A
IgG -1	immunoglobulina G1
IL-1	interleukina 1
IL-2	interleukina 2
IL-6	interleukina 6

IL-HP1	interleukina-HP1
INF-α	interferon α
INF-β2	interferon β2
kDa	kilodalton
LDH	dehydrogenaza mleczanowa
LIF	czynnik hamujący białaczkę
M-CSF	czynnik stymulujący kolonie makrofagów
MGI-2	induktor monocytów/granulocytów typu 2
NK	komórki naturalnej cytotoksyczności
NSS	chirurgia oszczędzająca miąższ nerki
OB.	odczyn Biernackiego
OS	całkowite przeżycia
OUN	ośrodkowy układ nerwowy
PCA	kwas pirolidynokarboksylowy
Pch	fosfocholina
PDGF-β	płytko-pochodny czynnik wzrostu β
RCC	rak nerkowokomórkowy nerki
RITA	przezskórna ablacja wiązką radiową
SAA	surowiczy amyloid A
snRNPs	małe jądrowe nukleoproteiny
TK	tomografia komputerowa
TNF	czynnik martwicy nowotworu
TNM	guz, węzły chłonne, przerzuty
UCLA	Uniwersytet Kalifornia Los Angeles
UICC	Międzynarodowa Unia do Walki z Rakiem
USG	ultrasonografia
VEGF	naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu
VEGFR	receptor naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu
WHO	Światowa Organizacja Zdrowia

Spis treści

Spis skrótów użytych w tekście. 4
1. WSTĘP 8
1.1. Rak nerki. 8
1.1.1. Epidemiologia. 8
1.1.2. Etiologia. 9
1.1.3. Klasyfikacja raka nerki. 10
1.1.4. Czynniki prognostyczne 13
1.1.5. Przebieg choroby. 19
1.1.6. Diagnostyka obrazowa i badania laboratoryjne. 20
1.1.7. Leczenie zabiegowe raka nerki 20
1.1.8. Leczenie systemowe raka nerki z przerzutami. 24
1.1.9. Nomogramy przeżycia chorych z powodu raka nerki miejscowo zaawansowanego. 27
2. CELE PRACY. 29
3. MATERIAŁ I METODA 30
3.1. Pacjenci. 30
3.2. Pobieranie krwi oraz oznaczenia parametrów morfologii i biochemii krwi obwodowej. 34
3.2.1. Morfologia krwi obwodowej 34
3.2.2. Aktywność LDH 35
3.2.3. Stężenie żelaza 35
3.2.4. Stężenie kreatyniny 36
3.2.5. Stężenie cholesterolu. 36
3.3. Oznaczenie ilościowe białka ostrej fazy (CRP) metodą immunoelektroforezy rakietkowej. 37
3.4. Ocena stężeń IL-6 w badanych surowicach. 38
3.5. Analizy statystyczne. 39
4. WYNIKI 40
4.1. Wartości morfologii krwi oraz wskaźników biochemicznych w grupie badanej. 40
4.2. Analiza badań przedoperacyjnych pomiędzy grupą pacjentów żyjących a zmarłych. 47
4.3. Analiza parametrów biochemicznych pooperacyjnych u pacjentów żyjących i zmarłych. 48

4.4. Białko ostrej fazy C-reaktywne (CRP) oraz Interleukina 6 (IL-6) w grupie badanej. 49
4.5. Ocena przeżycia chorych na podstawie badań biochemicznych krwi. 52
4.5.1. Ocena przeżycia chorych na podstawie badań krwi przed zabiegiem operacyjnym 52
4.5.2. Stężenia białka C-reaktywnego oraz Interleukiny 6 w odniesieniu do czasu przeżycia. 56
4.6. Charakterystyka wielkości guza, stopnia złośliwości nowotworu oraz zaawansowania klinicznego nowotworu. 57
4.7. Analiza przeżycia całkowitego chorych w zależności od wartości badanych parametrów krwi przed zabiegiem operacyjnym. 60
4.8. Analiza całkowitego przeżycia chorych w zależności od początkowych wartości CRP i IL-6 63
4.9. Analiza przeżycia całkowitego w zależności od wartości parametrów biochemicznych krwi w 6 miesięcy po operacji. 64
4.10. Analiza ogólnego przeżycia w zależności od stopnia złośliwości guza i zaawansowania klinicznego. 66
4.11. Przeżycia związane z rakiem nerki w badaniach biochemicznych. 69
4.12. Przeżycia związane z rakiem nerki a stężeniem interleukiny 6 i białka C-reaktywnego przed zabiegiem. 71
4.13. Przeżycia związane z rakiem nerki a stopniem zaawansowania klinicznego oraz stopniem złośliwości komórkowej. 73
4.14. Analiza wartości diagnostycznych badanych parametrów. 74
4.14.1. Analiza wartości diagnostycznych badanych parametrów wykonanych u chorych przed zabiegiem. 74
4.14.2. Analiza wartości diagnostycznych badanych parametrów u chorych 6 miesięcy po zabiegu nefrektomii. 77
4.15. Analiza stopnia zaawansowania, stopnia złośliwości oraz wielkości guza u chorych z rakiem nerki. 78
4.16. Ocena korelacji pomiędzy CRP i IL-6 a wskaźnikami laboratoryjnymi. 80
5. DYSKUSJA 81
6. WNIOSKI 102
7. STRESZCZENIE 103
8. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM 107
9. SPIS TABEL 111
10. SPIS RYCIN 112
11. PIŚMIENNICTWO 115

1. WSTĘP

1.1. Rak nerki.

1.1.1. Epidemiologia.

Rak nerki stanowi około 3 do 4 % nowotworów złośliwych u dorosłych. W Polsce w 2006r. nowotwory nerek rozpoznano u 2283 mężczyzn i 1483 kobiet. Liczba zgonów spowodowanych nowotworami nerek wynosiła 1558 u mężczyzn i 884 u kobiet.

W populacji polskiej zachorowania częściej występują w zachodniej części kraju i na północnym wschodzie. Dotyczą one w większej mierze ludności miejskiej (1,4 razy częściej dla mężczyzn i 1,3 dla kobiet), co prawdopodobnie związane jest z większym narażeniem na czynniki kancerogenne na obszarach miejskich. Mniej zachorowań obserwuje się we wschodniej części kraju (poza Warszawą i Suwalszczyzną). Wielkopolska posiada wyższy od krajowej przeciętnej wskaźnik zachorowalności na raka nerki [1]. Większość nowotworów nerek występuje po 45 roku życia. Najwięcej przypadków zachorowań i zgonów odnotowano u mężczyzn w wieku między 50 a 74. rokiem życia, u kobiet w wieku 65-79 lat. Procentowy udział nowotworów nerek w zachorowaniach wynosi 2,4% wśród kobiet i 3,6% wśród mężczyzn. Odpowiednio w zgonach procentowy udział mężczyzn wynosi 3,0% i kobiet 2,2%. Zachorowalność jak i umieralność u obu płci po 40 roku życia wykazuje wykładniczy wzrost wraz z przechodzeniem do kolejnych grup wiekowych. Po 75 roku życia następuje spadek ryzyka zachorowania na raka nerki. Ryzyko zarówno zachorowania jak i zgonu jest wyższe we wszystkich grupach wiekowych dla mężczyzn. Średnio do 65 roku życia ryzyko zgonu jest prawie 3 razy wyższe. Nowotwór nerek obserwuje się również w wieku dziecięcym z częstością około 4 do 6 % zachorowań w grupie od 0 do 19 lat.

Wieloośrodkowe badania epidemiologiczne wskazują na częstsze występowanie raka nerki w krajach północnych – Skandynawia, północna Europa, północna część Stanów Zjednoczonych - w porównaniu z krajami Afryki, Ameryki Południowej czy Australii. W Stanach Zjednoczonych rocznie

wykrywa się 30000 nowych przypadków raka nerki, a liczba zgonów nim powodowana sięga 12000 (dane z 1998r.) [2].

1.1.2. Etiologia.

Przyczyna powstawania raka nerki nie jest do końca wyjaśniona. Podobnie jak inne nowotwory rak ten rozwija się w wyniku zaburzeń na poziomie genetycznym. Znane są rodzinne formy raka nerki częściej spotykane w młodym wieku, charakteryzujące się obustronnym występowaniem i wieloogniskowością. [3-5].

Występowanie raka nerki jest warunkowane przez szereg czynników środowiskowych. Nowotwór ten występuje głównie jednostronnie, pojedynczo i u osób po pięćdziesiątym roku życia. W etiopatogenezie guza biorą udział czynniki środowiskowe, stosowane leki i niektóre schorzenia [4,6,7] Najczęściej wymieniane w piśmiennictwie czynniki środowiskowe raka nerki to palenie tytoniu, przewlekłe stosowanie analgetyków, przewlekłe stosowanie diuretyków, ekspozycja na kadm oraz ekspozycja na azbest [4]. Palenie tytoniu jest uznawane za najpoważniejszy czynnik ryzyka . Ryzyko jest nawet 2,5 krotnie większe u palących mężczyzn, zależy od czasu palenia i ilości wypalanych papierosów [4,6,8,9].

Do czynników ryzyka w raku nerki zalicza się również otyłość, stosowanie diety wysokokalorycznej, o dużej zawartości cholesterolu, białka zwierzęcego i kawy [9]. Aktywny tryb życia w połączeniu z dietą bogatą w warzywa i owoce wykazuje natomiast ochronne działanie [10]. Odnotowano również pojedyncze przypadki guza nerki w następstwie zastosowania radioterapii z powodu raka jądra [11].

Nowotwory złośliwe nerek rozwijają się u chorych z niewydolnością nerek poddawanych przewlekłej hemodializie. Zjawisko to dotyczy około 20% chorych dializowanych w przebiegu autosomalnej dominującej wielotorbielowatości nerek typu dorosłych. Rak rozwija się w torbielach nerek chorych dializowanych. Im dłuższy czas dializ tym większe ryzyko wystąpienia zmian nowotworowych. Guzy te są często obustronne i wieloogniskowe [12-14].

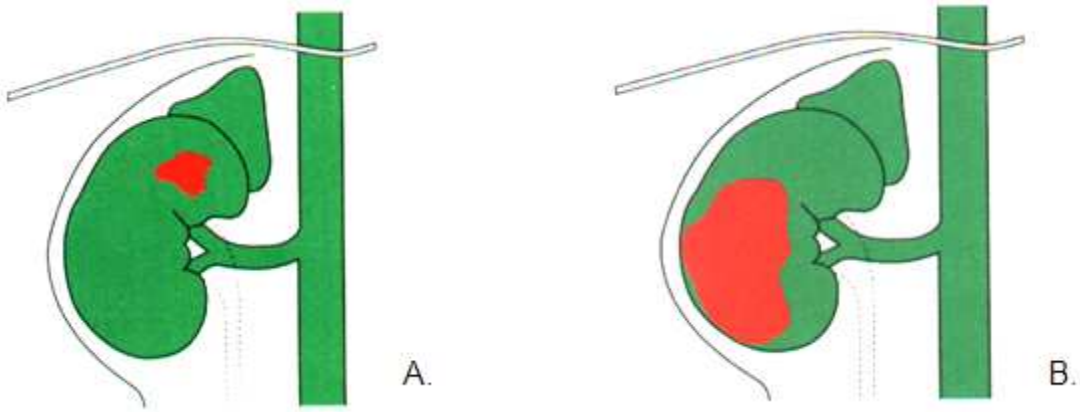
Rzadkie ale warte odnotowania są formy rodzinne występowania raka nerki. Zmiany takie są przekazywane w sposób autosomalny dominujący. Najczęstszą postacią jest guz nerki towarzyszący zespołowi von Hipper-Lindaua, który charakteryzuje się częstością występowania 1/39 000 – 1/53 000 urodzeń. Chorobie towarzyszy skłonność do pojawiania się naczyniaków siatkówki, hemangioblastoma ośrodkowego układu nerwowego, raków i torbieli nerek, torbieli trzustki, phaeochromocytoma oraz gruczolakotorbieli najądrzy. Wśród chorych z zespołem von Hipper-Lindau. rak nerki rozwija się u 8 do 63% pacjentów, z czego u jednej trzeciej stanowi przyczynę zgonu [15,16].

Wrodzone występowanie guza nerki obserwuje się także w przebiegu stwardnienia guzowatego (sclerosis tuberoza) oraz w wielotorbielowatości nerek typu dorosłych.

1.1.3. Klasyfikacja raka nerki.

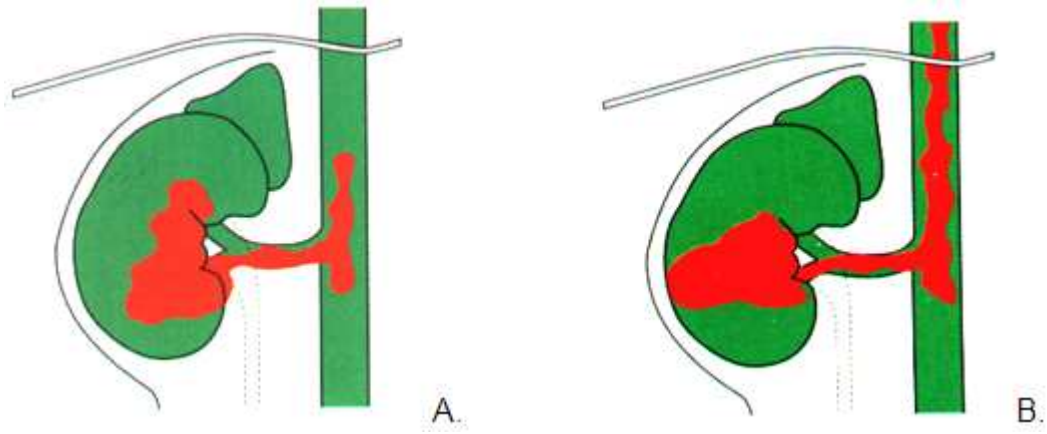
W 1958r. Flocks i Kadeski stworzyli pierwszy system oceny stopnia zaawansowania patologicznego raka nerki, który został następnie zmodyfikowany przez Robsona w 1963r. Piętnaście lat później w 1978r. po raz pierwszy rak nerki został ujęty w systemie TNM (T [tumor] – guz pierwotny, N[noduli] – zajęte węzły chłonne, M[metastases]– przerzuty odległe) przez Międzynarodową Unię do Walki z Rakiem (UICC Union Internationale Contra le Cancer). W wyniku wieloletniej współpracy IUCC oraz Amerykańskiej Połączonej Komisji do Spraw Raka (AJCC – American Joint Comission on Cancer) powstał w 1997r wspólnie opracowany system TNM. Obecnie powszechne zastosowanie mają dwa podziały raka nerki: klasyfikacja TNM z 2009 roku [17], która zastąpiła poprzednią edycję z 2002 roku oraz kliniczna klasyfikacja Robsona z 1969 roku [18].

Według klasyfikacji TNM 2009 guzy ograniczone do miąższu nerki podzielono według ich wielkości na T1 i T2 W stopniu T1 guz w najszerszym wymiarze nie przekracza 7cm. i dzieli się na T1a guz do 4cm. oraz T1b guz mieści się w przedziale 4 - 7cm. Natomiast stopień T2 jest podzielony na T2a guz o wymiarze powyżej 7cm. do 10 cm. włącznie oraz T2b guz przekraczający 10cm. średnicy(ryc.1).



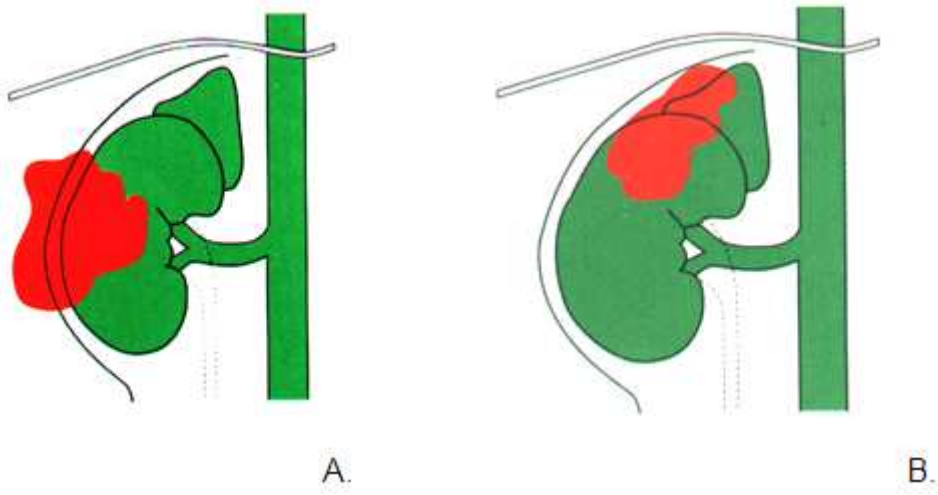
Rycina 1. Guz nerki w stopniu T1 do 7cm Ø (A) i w stopniu T2 >7cm Ø (B)

Guzy naciekające tkankę tłuszczową wnikające bądź wrastające do naczyń krwionośnych ale nie przekraczające powięzi Geroty stanowią stopień T3. Dzieli się on na trzy podtypy T3a w przypadku nacieku na tkankę tłuszczową lub okolicy wnęki nerki oraz w przypadku wnikania guza do żyły nerkowej, T3b kiedy następuje wrastanie nowotworu do żyły nerkowej lub żyły głównej dolnej poniżej przepony oraz T3c kiedy czop nowotworowy sięga powyżej przepony.(ryc.2)



Rycina 2. Guz nerki w stopniu T3b (A) i T3c (B)

W najbardziej zaawansowanym stopniu T4 guz nacieka sąsiednie struktury w tym, w odróżnieniu od poprzednie klasyfikacji z 2002r. obejmuje naciek na nadnercze.(ryc.3)



Rycina 3. Guz w stopniu T4 naciek poza powięź Geroty (A) naciek na nadnercze (B)

Ocena zajęcia węzłów chłonnych jest określona symbolem N. Przy braku możliwości oceny zajęcia węzłów Nx, jako brak przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych N0 jako zajęcie pojedynczego regionalnego węzła N1 lub N2 zajęcie większej liczby węzłów.

Brak wiedzy o przerzutach określa symbol Mx, brak przerzutów oznacza symbol M0, a obecność przerzutów stanowi M1.

System TNM jest częściej stosowany w większości krajów europejskich, podczas gdy w krajach anglosaskich najpowszechniejsza jest klasyfikacja Robsona. Najbardziej istotną różnicą między klasyfikacją TNM z 2009 roku, a poprzednią edycją z 2002 roku jest przeniesienie zajęcia nadnercza przez guz ze stopnia T3a do T4 oraz podzielenie stopnia T2 na T2a z wielkością guza między 7 a 10cm. i T2b gdzie wielkość guza w największym wymiarze przekracza 10 cm. Wielu badaczy wskazywało na niewielką wartość prognostyczną w przypadku naciekania guza na nadnercze co przyczyniło się to zmian w klasyfikacji TNM.[19,20].

Stopień zaawansowania klinicznego jest najważniejszym czynnikiem prognostycznym określającym przeżycie chorych. Wieloośrodkowe badania na dużych grupach pacjentów dowodzą, że przeżycia 5 letnie w raku ograniczonym do narządu (T1-T2) mieszczą się w przedziale 60 – 90 %. Przerzuty odległe (M1) powodują radykalny spadek przeżyć do 5 – 10 %. Rokowanie u chorych z naciekiem na torebkę tłuszczową T3 jest o około 15 % gorsze niż w wypadku guza ograniczonego do miąższu nerki, jednak wyraźnie

lepsze niż w wypadku zajęcia węzłów chłonnych. Złe rokowniczo jest również występowanie nacieku na naczynia nerkowe T3c, natomiast sama obecność czopa nowotworowego, który da się usunąć w całości nie pogarsza w sposób istotny rokowania.[21-24].

1.1.4. Czynniki prognostyczne

Czynniki prognostyczne w raku nerki możemy podzielić na anatomiczne, histologiczne, kliniczne i molekularne.

1.1.4.1.Czynniki anatomiczne

Do czynników anatomicznych zaliczamy wielkość guza, nacieki na naczynia nerkowe, zajęcie powięzi Geroty, naciek na nadnercze lub inne sąsiednie narządy, zajęcie węzłów chłonnych bądź obecność przerzutów odległych. Te czynniki powszechnie wspólnie objęte są klasyfikacją TNM i stanowią obecnie najbardziej przydatny czynnik rokowniczy.

1.1.4.2. Czynniki histologiczne

Do czynników histologicznych zaliczamy stopień zróżnicowania złośliwości komórkowej guza według Fuhrmana (G – grading), rodzaj utkania komórkowego raka, obecność struktur mięsakowych, nacieki naczyniowe, obecność martwicy guza oraz naciek na układ zbiorczy nerki.

Zależność między stopniem zróżnicowania komórek guza a przeżyciem pacjentów po raz pierwszy zaobserwowano w 1932r w Stanach Zjednoczonych. Pierwsze prace na ten temat ogłosili Hand i Broders. Od tego czasu powstało wiele systemów zróżnicowania cytologicznego komórek. Większość z nich opiera się na charakterystycznych cechach morfologicznych nowotworu takich jak typ komórek, obecność martwicy czy relacja na granicy guza i zdrowej tkanki [25]. System oparty na budowie jąder komórkowych wprowadził jako pierwszy Skinner w 1971r. Podobne kryteria przyjął Fuhrman dzieląc typy jąder komórkowych na 4 grupy. Od najbardziej uporządkowanych G1 do najbardziej przebudowanych z obecnością patologicznych jąderek G4 [26]. Najszerszym zastosowaniem cieszy się trzystopniowa klasyfikacja opracowana przez Hermaneka i rekomendowana przez UICC, oparta o podobne kryteria oceny do proponowanych przez Fuhrmana czy Skinnera. Grupa G1 stanowi guzy o

korzystnym rokowaniu, grupa G3 o niekorzystnym, natomiast grupa G2 stanowi rokowanie pośrednie [27]. Obecnie również klasyfikację Fuhrmana stosuje się w wielu ośrodkach w wersji trzystopniowej [28].

Oceniając poszczególne stopnie złośliwości komórkowej badacze doszli do wniosku, że 5 letnie przeżycie bez wznowy u chorych z G1 wynosi 76%, w stopniu G2 – około 72% natomiast w stopniu G3 tylko około 30%. Stopień zróżnicowania cytologicznego jest drugim po stopniu zaawansowania TNM najważniejszym niezależnym czynnikiem rokowniczym w raku nerki [29,30].

Według klasyfikacji WHO (World Health Organization) mamy trzy główne podtypy raka nerki: czysty jasnokomórkowy stanowiący 80 -90 %, brodawkowaty stanowiący 10 - 15 % oraz chromofobowy 4 -5 %. Biorąc pod uwagę przeżycia pacjentów to najlepiej rokują chorzy z podtypem chromofobowym, a najgorzej z jasnokomórkowym [31,32]. W obrębie guzów brodawkowatych możemy wyróżnić dwie podgrupy. Dobrze rokuje guz o niskim stopniu złośliwości z chromofilną cytoplazmą, natomiast źle rokuje guz o wysokim stopniu złośliwości komórkowej z eozynofilną cytoplazmą i dużym potencjałem do przerzutów [33].

1.1.4.3. Czynniki kliniczne

Oceniając stan kliniczny pacjenta najczęściej korzystamy ze skali Karnofskiego lub oceny sprawności klinicznej pacjenta stosowanej przez Estern Cooperative Oncology Group(ECOG).Są to skale, pozwalająca określić stan ogólny i jakość życia pacjenta z chorobą nowotworową [34,35].

1.1.4.4. Czynniki molekularne.

Wiele czynników molekularnych jest badanych pod kątem przydatności klinicznej w prognozowaniu przebiegu raka nerki. Zaliczamy do nich anhydrazę węglanową IX (CaIX), naczyniowo śródbłonkowy czynnik wzrostu (vascular endothelial growth factor VEGF), czynnik wywołany niedotlenieniem tkanek (hypoxia inducible factor HIF), białko P53, E kadheryna i wiele innych. Jak dotąd, żaden z nich nie potwierdził swojej wartości jako wiarygodny czynnik rokowniczy, dlatego nie weszły one do codziennej praktyki klinicznej [36-38]. Czynnikami prognostycznymi w raku nerki, z którymi wiąże się również nadzieję

na zastosowanie kliniczne są interleukina -6 (IL-6) oraz białko C-reaktywne (CRP).

1.1.4.4.1. Interleukina 6 (IL -6)

Interleukina-6 jest cytokiną należącą do rodziny hematoprotein. Używane obecnie określenie tego białka zostało wprowadzone w grudniu 1988 roku. Wcześniej IL-6 znana była w piśmiennictwie pod nazwą interferon-β2 (IFN-β2), czynnik stymulujący limfocyty B-2 (BSF-2), białko 26-kDa, czynnik stymulujący hepatocyty (HSF), czynnik różnicowania limfocytów cytotoksycznych T (CDF), interleukina-HP1 (IL-HP1), induktor monocytów/granulocytów typu 2 (MGI-2).

Gen odpowiedzialny za produkcję IL-6 zajmuje locus 7p21, zawiera 5 eksonów i 4 introny. Sekwencja cDNA ludzkiej IL-6 przewiduje produkt złożony z 212 aminokwasów. Dojrzała cząsteczka białka jest monomerem o masie 21 kDa składającym się z 184 aminokwasów.

Interleukina 6 produkowana jest przez limfocyty T, makrofagi i monocyty, fibroblasty, hepatocyty, komórki śródbłonka. Cytokina ta uwalniana jest w odpowiedzi na stan zapalny, infekcję, wstrząs, proces nowotworzenia [39]. Działanie IL-6 zaznacza się głównie w obrębie komórek. Wpływa także na inne cytokiny w stosunku do których może oddziaływać agonistycznie bądź antagonistycznie.

Receptor dla IL-6 znajdujemy na powierzchni limfocytów T w fazie spoczynkowej, aktywnych limfocytów B, komórek linii szpikowej, zmodyfikowanych pod wpływem EBV limfocytów. [40] Transdukcja sygnału pod wpływem IL-6 zachodzi na trzech głównych szlakach: kinazy białkowej C, cAMP/kinaza białkowa A oraz na drodze uwalniania wapnia [41].

Interleukina-6 jest uwalniana pod wpływem IL-1 i TNFβ [61]. IL-6 działa stymulująco na reakcję ostrej fazy wpływając na uwalnianie szeregu białek nazywanych białkami ostrej fazy (BOF) oraz ujemnie regulując sekrecję innych protein. Na drodze regulacji transkrypcji genów IL-6 powoduje wzrost syntezy i uwalniania CRP, SAA, fibrynogenu. Jednocześnie w obecności IL-6 następuje spadek poziomu albuminy i transferyny (ujemne białka ostrej fazy) [42]. Lokalna reakcja ostrej fazy prowadzi do reakcji ogólnoustrojowych: gorączki, wzrostu

OB, wzrostu sekrecji glikokortykoidów, aktywacji komplementu i kaskady krzepnięcia.

Szczególnie ważną rolę IL-6 odgrywa we wczesnych stadiach różnicowania limfocytów T. Molekularna forma IL-6 odpowiedzialna za aktywację limfocytów T jest uwalniana przez monocyty.

IL-6 wzmacnia efekt działania IL-2 i promuje różnicowanie komórek CD4 w kierunku T- helpers 2 [43]. Ponadto IL-6 kontroluje wzrost i proliferację wczesnych komórek progenitorowych w tarczycy i szpiku kostnym, w późniejszych stadiach aktywuje limfocyty T.

Bardzo ważną rolę cytokina odgrywa w stosunku do komórek NK (Natural Killer)- jako ich aktywator oraz stymulując NK do bardziej efektownej lizy patogenu. IL-6 także promuje różnicowanie i proliferację limfocytów B oraz indukuje przejście limfocytów B w komórki plazmatyczne [43,44]. Działając z kolei jako czynnik wzrostu, wzmaga produkcję i uwalnianie przeciwciał z aktywnych komórek plazmatycznych (głownie IgA i IgG) [39,42].

Aktualnie jako kluczowe efekty działania wymienia się wpływ interleukiny 6 na hematopoezę i trombopoezę oraz jej rolę jako czynnika wzrostu złośliwych komórek i komórek hybridoma. Wydaje się to być szczególnie istotne w przypadku takich nowotworów jak mięsak Kaposiego czy szpiczak mnogi [39,44].

1.1.4.4.2. Białko C – reaktywne (CRP)

Białko C−reaktywne (CRP – C−reactive protein) pierwszy raz zostało opisane w 1930 r. przez Tilleta i Francisa w Laboratorium Bakteriologicznym Instytutu Rockefellera w Nowym Jorku. Badali oni reakcje serologiczne różnych ekstraktów pneumokoków pochodzących od pacjentów z rozpoznanym oraz leczonym zapaleniem płuc i doszli do wniosku, że pewna frakcja somatycznych polisacharydów, nazwana przez nich frakcją C, ulegała precypitacji podczas reakcji z surowicą pacjentów w ostrej fazie schorzenia [45]. Scharakteryzowali oni substancję C−reaktywną jako białko, wykazujące właściwości antygenowe. W następnych latach badania nad tym czynnikiem przyniosły opracowanie jakościowych, a następnie, w miarę dalszego udoskonalania diagnostyki,

czułych i dokładnych ilościowych procedur oznaczania stężenia CRP jako składnika frakcji α-globulinowej surowicy ludzkiej, które nadały polipeptydowi rangę wskaźnika diagnostycznego oraz pozwoliły na jego ocenę w warunkach klinicznych [45-50]. Białko CRP jest syntetyzowane głównie przez komórki Browicza−Kupffera oraz przez hepatocyty. Jego ekspresję stwierdza się również w monocytach i limfocytach [45,49,51,52]. Mechanizmy pobudzania biosyntezy CRP wciąż są przedmiotem badań. Stwierdzono, że głównymi stymulatorami tego procesu są cytokiny, m.in. IL−1 oraz IL−6 i TNF. Interleukina 6 aktywuje drogą fosforylacji czynnika transkrypcyjnego gen odpowiedzialny za syntezę CRP [49,52-57]. CRP występuje w osoczu zdrowych osób; jego stężenie kształtuje się w granicach 0–10 mg/l (nie określono jednak dotychczas wartości granicznej ustalającej kategorycznie zakres normy i patologii) [45,49,58]. W nowotworach złośliwych, takich jak rak piersi, przełyku, płuc, jajnika, za właściwe stężenie CRP uznaje się < 10 mg/l [59-64]. Ostry proces zapalny oraz nowotwory złośliwe powodują znaczny wzrost syntezy i wydzielania białka C-reaktywnego. W nowotworach łagodnych piersi stężenie CRP mieści się w zakresie wartości prawidłowych [64]. Obecność CRP znacznie wyprzedza wystąpienie przyspieszonego odczynu Biernackiego niezależnie od etiologii schorzenia (choroba reumatyczna, zesztywniające zapalenia stawów kręgosłupa, udar mózgu, ostre bakteryjne stany zapalne, wrzodziejące zapalenie jelita grubego, zawał mięśnia sercowego, toczeń trzewny). Podczas rekonwalescencji białko C−reaktywne znika nieco wcześniej, przed powrotem odczynu Biernackiego do wartości prawidłowych [46,50,53,57,65-67].

Cząsteczka CRP składa się z pięciu identycznych podjednostek polipeptydowych, połączonych wiązaniami niekowalencyjnymi (konfiguracja dyskoidalna) z zachowaniem cyklicznej symetrii pentamerycznej [45,56]. Masa cząsteczkowa CRP wynosi około 120 kDa, punkt izoelektryczny natomiast 4,82 [56,68]. Podjednostki CRP mają zwykle kształt kulisty, tworzą pierścień zbliżony kształtem do pięciokąta o boku 10 nm. Łańcuch elementarny polipeptydu ma masę cząsteczkową około 21 kDa i jest zbudowany ze 187 aminokwasów. W każdym z nich występuje pojedynczy mostek dwusiarczkowy utworzony przez reszty cysteiny w pozycjach 37 i 78. Na końcu aminowym łańcucha

podstawowego znajduje się reszta kwasu pirolidynokarboksylowego (PCA), na końcu karboksylowym natomiast reszta proliny [45,56]. Każda z podjednostek CRP ma zdolność łączenia się ze współudziałem Ca2+ z ligandami o charakterze: fosfolipidów, polikationów, polianionów, lipofosfoglikanów [45,53,56,68,69]. Reakcja ta jest możliwa dzięki zaistnieniu wiązania wodorowego, które powstaje między resztą kwasu glutaminowego zasadową resztą choliny, CRP tworzy wtedy kompleksy z organellami komórkowymi lub ich fragmentami zawierającymi te ligandy. Ekspresję miejsca wiążącego fosfocholinę (PCh – binding site) warunkuje obecność Thr76 [56,70-77]

Polipeptyd CRP pełni w ustroju wiele istotnych funkcji, ale niektóre nadal nie są poznane i budzą wciąż wiele różnych wątpliwości [45,49,56,78]. W okresie, gdy brak jest swoistych przeciwciał, kompleksy CRP z ligandami – polikatonami, poli−sacharydem C pneumokoków, związkami zawierającymi reszty fosforylocholinowe mogą aktywować ludzki dopełniacz z uwolnieniem fragmentów C3b i C5a na drodze klasycznej [58,79-81]. Mold z zespołem oraz Gewurz i współpracownicy stwierdzili zdolność hamowania przez CRP alternatywnej drogi aktywacji dopełniacza. Polipeptyd ten, zachowując się podobnie jak nieswoista opsonina, wiąże w obecności jonów wapnia reszty lipidowe oraz cząsteczki fosfatydylocholinowe na powierzchni bakterii Gram−dodatnich, pochodzące z uszkodzonych błon komórkowych, opłaszcza mikroorganizmy i usprawnia tym samym proces immunofagocytozy dokonywany przez komórki żerne [45,53,56,73,74,76-80]. Białko C−reaktywne jest również zdolne do aktywacji makrofagów (reakcja z receptorami Fc dla przeciwciał). Niedawno ustalono, że CRP reaguje z antygenami jądrowymi, chromatyną, małymi jądrowymi nukleoproteinami (snRNPs), co w znacznym stopniu przyczynia się do łagodzenia autoimmunizacji ustroju [80,81]. Wiadomo, że białko C−reaktywne blokuje receptory limfocytów T (TCR) wiążące antygen. Stwierdzono jednak bezpośredni wpływ CRP na monocyty i granulocyty obojętnochłonne wskutek identyfikacji receptorów CRP−R na powierzchni tych komórek [53]. Opisano również populację monocytów, mających swoiste powierzchniowe determinanty antygenowe, wykazujących powinowactwo do CRP [56].

1.1.5. Przebieg choroby.

Rak nerki najczęściej rozwija się bezobjawowo, klasyczna triada objawów – krwiomocz, guz wyczuwalny przez powłoki i ból nerki występuje jedynie w 11% przypadków i oznacza znaczne zaawansowanie procesu nowotworowego. U coraz większej grupy pacjentów dzięki badaniom obrazowym USG guz nerki jest wykrywany przypadkowo. Najczęstszym pojedynczym objawem jest mikroskopowy lub makroskopowy krwiomocz, stwierdzany u 38-40% pacjentów. Ból towarzyszący guzom nerek ma charakter kolki i prezentowany jest w około 40% przypadków. Dla zaawansowanego procesu choroby charakterystyczny jest tępy uporczywy ból, który może być wynikiem krwawienia do masy guza bądź nacieku i ucisku na moczowód z utrudnieniem odpływu moczu.

Do objawów towarzyszących w raku nerki należą utrzymujące się stany gorączkowe, niedokrwistość i nocne poty oraz żylaki powrózka nasiennego po stronie zmienionej nerki związane z utrudnionym drenażem żył jądrowych [82]. U pacjentów z zaawansowanym procesem nowotworowym obserwować możemy utratę masy ciała a w końcowym etapie choroby może pojawić się dysfunkcja wątroby, neuropatia czy amyloidoza.

Z występowaniem guza nerki może być związanych szereg objawów wynikających z jej funkcji endokrynnych. Wymienić tutaj należy nadciśnienie tętnicze związane z nadprodukcją reniny bądź substancji do niej podobnej wytwarzanej przez sam guz czy hiperkalcemię spowodowaną wytwarzaniem przez guz substancji podobnej do parathormonu. W wyniku nadprodukcji erytropoetyny przez komórki guza u pacjentów mogą wystąpić również objawy czerwienicy.

Rozsianą chorobę nowotworową można stwierdzić u około 25 a 30 % chorych z rozpoznanym rakiem nerki. Sposobem szerzenia się nowotworu jest rozsiew komórek poprzez naczynia krwionośne i chłonne, naturalną drogę stanowi również naciek przez ciągłość na sąsiednie narządy. Przerzuty raka nerki zazwyczaj lokalizują się w płucach, tkankach miękkich, kościach, wątrobie, ośrodkowym układzie nerwowym i skórze [18,82].

1.1.6. Diagnostyka obrazowa i badania laboratoryjne.

W diagnostyce guzów nerek pierwszym badaniem przesiewowym jest USG. W Polsce obecnie coraz częściej rozpoznawany jest guz nerki we wcześniejszym stadium zaawansowania dzięki powszechności użycia zarówno przez urologów jak i lekarzy innych specjalności badania ultrasonograficznego. Technika USG pozwala ocenić wielkość guza, obecność czopa nowotworowego w obrębie żyły nerkowej bądź żyły głównej, ruchomość guza i nerki w stosunku do struktur sąsiednich, obecność powiększonych węzłów chłonnych. USG jest także bardzo przydatne do oceny wznowy miejscowej, po usunięciu guza. Techniką potwierdzającą i niekiedy rozstrzygającą obecność i zaawansowanie zmian nowotworowych jest tomografia komputerowa jamy brzusznej [83]. W diagnostyce raka nerki korzysta się również z rezonansu magnetycznego, który jest szczególnie przydatny w ocenie węzłów chłonnych oraz naciekania żył nerkowych i żyły głównej [84]. Badaniem z wybory do oceny ewentualnych przerzutów do płuc jest zdjęcie rentgenowskie klatki piersiowej, a w sytuacjach wątpliwych tomografia. Z badań laboratoryjnych powszechnie stosuje się ocenę morfologii krwi obwodowej, poziomu kreatyniny, mocznika, elektrolitów – sodu, potasu, wapnia.

1.1.7. Leczenie zabiegowe raka nerki

1.1.7.1. Radykalna nefrektomia

Do niedawna radykalna nefrektomia była podstawą postępowania terapeutycznego w raku nerki. Zabieg chirurgiczny polega na usunięciu zajętej procesem nowotworowym nerki wraz z okolicznymi węzłami chłonnymi. W historycznym opracowaniu Albarran i Imbert opisują Walcotta jako pierwszego chirurga, który w 1861 roku wykonał nefrektomię z powodu raka nerki, choć pierwotnym rozpoznaniem przedoperacyjnym była torbiel wątroby. W 1877 roku Kocher wykonał pierwszą zamierzoną nefrektomię z dostępu przezotrzewnowego z powodu raka nerki u 35-letniej kobiety, jednak chora zmarła z powodu zapalenia otrzewnej w trzeciej dobie po zabiegu [85]. Najczęściej przeprowadza się nefrektomię z dojścia brzusznego, ale stosowany jest również dostęp zaotrzewnowy, piersiowo-brzuszny czy coraz popularniejszy laparoskopowy. Sposób radykalnego usunięcia zmienionej nerki

zaproponował Robson w 1963r [82]. Radykalne podejście polegało na usunięciu nerki wraz z torebką tłuszczową i powięzią Gerota, z nadnerczem oraz węzłami chłonnymi od przepony do rozwidlenia aorty. W przypadku czopa nowotworowego w żyle nerkowej bądź żyle głównej dolnej należy go również usunąć. Obecnie kwestionuje się zasadność limfadenektomii. Nie ma jak dotychczas żadnego ukończonego, prospektywnego, randomizowanego doświadczenia klinicznego, które udowadniałoby, że systematyczna limfadenektomia ma korzystny wpływ na rokowanie co do przeżycia. Badanie kliniczne EORTC nr 30881 nie wykazało wpływu limfadenektomii na przeżycie, udowodniło jedynie, iż nie zwiększa ona odsetka powikłań w stosunku do zabiegów z pozostawieniem węzłów [86,87]. Obecnie również nie wykonuje się rutynowo usunięcia nadnerczy. W większości ośrodków systematyczna adrenalektomia po stronie guza wykonywana jest u chorych, u których nadnercza nie udało się uwidocznić przed operacją, jest ono zniekształcone bądź poszerzone, a także w przypadku nowotworów górnego bieguna albo dużych guzów obejmujących całą nerkę [87].

Wiele ośrodków stosuje wyłącznie techniki laparoskopowe zarówno do zabiegów radykalnych jak i organooszczędnych, z zachowaniem tych samych zasad czystości onkologicznej. Główną zaletą jest mniejsza inwazyjność i możliwość krótszej rekonwalescencji po zabiegu, co w obecnych czasach aktywności zawodowej jest nie do przecenienia [88,89].

1.1.7.2. Chirurgia z oszczędzeniem miąższu nerki.

Według najnowszych standardów wytyczonych przez Europejskie Towarzystwo Urologiczne (European Board of Urology) i zawartych w wytycznych postępowania w raku nerki z ostatnią aktualizacją w 2009r.(Guidelines on renal cell carcinoma 2009). Usunięcie nowotworu z pozostawieniem zdrowego miąższu nerki (NSS – nephron sparing surgery) jest zalecanym postępowaniem w przypadku pojedynczych guzów ograniczonych do miąższu nerki do wielkości 7 cm. - kliniczne T1 – T2. Do niedawna zabiegi tego typu były zarezerwowane wyłącznie do przypadków leczenia obustronnych raków nerek, jedynej nerki, lub w wypadku, kiedy druga nerka była w znacznym stopniu uszkodzona przez inny proces chorobowy. Pierwszy zastosował tę

metodę Czerny w 1887 roku usuwając biegun nerki z powodu guza. Metoda ta jednak na wiele lat została zarzucona z powodu występowania częstych powikłań głównie krwawień do miąższu nerki, posocznicy czy tworzenia się przetok moczowych. Ponownie technikę rozpropagował Vermooten w 1950 roku, ale operacje nerkooszczędzające stosowano głównie u chorych z kamicą nerkową i gruźlicą nerki [90]. W dzisiejszej dobie zaawansowanych technik obrazowych, kiedy znaczna część guzów jest wykrywana jako niewielkie zmiany, zabieg organooszczędy stosuje się jako metodę z wyboru. Wyniki przeżyć dla jednakowych co do wielkości guzów nerek w wypadku radykalnej nefrektomii i nefrektomii częściowej są porównywalne [91-94]. Odstępstwo od metod oszczędzających miąższ nerki stanowi miejscowe zaawansowanie guza lub brak technicznych możliwości usunięcia nowotworu z uwagi na jego niekorzystne położenie. W tych wypadkach stosujemy tradycyjne radykalne usunięcie nerki.

1.1.7.3. Techniki małoinwazyjne

W wyjątkowych bardzo ograniczonych przypadkach alternatywą dla leczenia operacyjnego może być zastosowanie techniki małoinwazyjnych. Do tych technik należą przezskórna ablacja wiązką radiową (RITA - radiofrequency interstitial tissue ablation) [95], krioablacja – zamrażanie [96], ablacja laserowa, ablacja zorganizowaną wiązką ultradźwiękową (HIFU – high-intensiti focused ultrasound ablation) [97]. Zaletami tych technik jest mała inwazyjność, możliwość zabiegów ambulatoryjnych u pacjentów nienadających się do klasycznych zabiegów operacyjnych wymagających pełnej anestezji. Procedury te są zarezerwowane dla szczególnych przypadków – raka niedostępnego dla organooszczędnej chirurgii jedynej nerki, wybranych guzów obustronnych bądź małych guzów leżących obwodowo u osób starszych z obciążonym wywiadem chorobowym, dla których operacja stanowi większe ryzyko niż potencjalne korzyści z niej płynące. Przeciwwskazaniem dla tych zabiegów jest spodziewany czas przeżycia chorych poniżej roku, mnogie przerzuty i trudności wynikające z wielkości bądź niekorzystnego położenia guza. Te zabiegi nie sprawdzają się w guzach powyżej 5 cm średnicy położonych we wnęce nerki bądź układzie zbiorczym. Bezwzględnym przeciwwskazaniem są niepoddające się leczeniu zaburzenia krzepnięcia krwi oraz stan uogólnionego zakażenia.

Techniki małoinwazyjne mają obecnie statut zabiegów eksperymentalnych, zarezerwowanych dla wyspecjalizowanych centrów i nie są powszechnie rekomendowane. Ich skuteczność jest nadal sprawdzana w wielu międzynarodowych badaniach.

1.1.7.4. Embolizacja.

Embolizacja tętnicy nerkowej stosowana jest obecnie niezwykle rzadko. Embolizacja ma ograniczone ściśle uwarunkowane zastosowanie. Zabieg ten wykorzystuje się w przypadku masywnego krwawienia z nowotworowej nerki u pacjentów nie kwalifikujących się do zabiegu, bądź w celu kontroli bólu z powodu zaawansowania choroby [98]. Jest to postępowanie paliatywne w celu poprawienia komfortu życia pacjentów w schyłkowej postaci choroby. Embolizacje stosuje się również przed operacją bardzo dużego guza celem zmniejszenia jego masy i ograniczenia ewentualnego krwawienia podczas zabiegu. Nefrektomia wykonywana jest wtedy do kilku dni po embolizacji [99,100]. Postępowanie takie niestety nie poprawia przeżycia tych pacjentów co potwierdzają badacze z Niemiec [101]. Trzecim wskazaniem obecnie stosowanym jest embolizacja zmian przerzutowych rozsianego raka nerki. Zabiegi takie wykonuje się w wypadku przerzutów do wątroby [102]. Arteriografia tętnic nerkowych poprzedza embolizację. Badanie to pokazuje przebieg naczyń w obrębie nerki i pozwala selektywnie zamykać naczynia różnego typu materiałami. Do najpopularniejszych należą sprężynki Gianturco, czy spongostan.

1.1.7.5. Leczenie przerzutowego raka nerki.

Leczenie operacyjne raka nerki z przerzutami może być korzystne jedynie w przypadku technicznych możliwości usunięcia wszystkich zmian przerzutowych. Ogromne znaczenie ma również dobry stan ogólny pacjenta. Dla większości chorych jest to postępowanie paliatywne i powinno być skojarzone z uzupełniającym leczeniem systemowym [103]. Najczęstsza lokalizacja przerzutów to płuca, kości, węzły chłonne, mózg, rdzeń kręgowy, zdarzają się również przerzuty do gałki ocznej, skóry, jąder czy jelit. Całkowite usunięcie zmian przerzutowych poprawia rokowanie, a największą korzyść obserwuje się u pacjentów z przerzutami do płuc [104]. Usuwa się również

zmiany przerzutowe do kości z rekonstrukcją ubytków w celu poprawienia jakości życia pacjentów [105]. Radioterapia zmian przerzutowych ma zastosowanie jedynie w wybranych przypadkach u chorych objawowych ze zmianami nie nadającymi się do chirurgicznej resekcji. Naświetlanie zmian w mózgu i kościach może poprawić komfort życia pacjentów likwidując dokuczliwe objawy związane z progresją choroby [106,107].

1.1.8. Leczenie systemowe raka nerki z przerzutami.

Pomimo coraz lepszej diagnostyki i dostępności świadczeń specjalistycznych, nadal u 20-25% chorych w momencie rozpoznania stwierdza się przerzuty odległe [108]. Najczęstsze umiejscowienie przerzutów to płuca, kości (głównie kręgosłup, miednica, kości długie), wątroba, ośrodkowy układ nerwowy, także skóra, nadnercza, druga nerka, pochwa, gałka oczna [109]. Obecność przerzutów jest zdecydowanie złym czynnikiem prognostycznym i zdecydowanie skraca czas przeżycia u tych pacjentów. U nielicznych chorych obserwuje się spontaniczną regresję odległych przerzutów po usunięciu zmiany pierwotniej. Jest to jednak mniej niż 1% leczonych, są to najczęściej ludzie młodzi, w dobrym stanie ogólnym z przerzutami do płuc [110].

Leczenie systemowe jest zarezerwowane dla chorych z miejscowo zaawansowanym guzem w wypadku choroby rozsianej i przy braku powodzenia leczenia miejscowego. Standardowe metody leczenia systemowego zaawansowanego raka nerki charakteryzują się niewielką skutecznością [111-113].

1.1.8.1. Immunoterapia

Interleukina – 2 (IL-2) jest stosowana w terapii przerzutowego raka nerki od 1985r. z poziomem odpowiedzi na leczenie między 7-27% [114,115]. Najlepsze efekty osiąga się w przypadku czystych postaci raka jasnokomórkowego. Obecnie IL-2 jest jedyną cytokiną zaaprobowaną do leczenia pacjentów w monoterapii.

Interferon – α (INF-α) jest lekiem o udowodnionej skuteczności, badania pokazują odpowiedź na leczenie na poziomie 6-15%, ryzyko rozwoju dalszych przerzutów spada o 25% a przeżycia ulegają wydłużeniu 3 – 5 miesięcy w

stosunku do placebo [116,117]. Badanie skojarzonego leczenia INF-α i bevacizumabem porównywane z samym INF-α pokazały przewagę leczenia skojarzonego. Również pozostałe leki przeciwangiogenne wykazują większą skuteczność w stosunku do interferonu. Z tego powodu INF-α nie jest obecnie stosowany jako lek pierwszego rzutu w monoterapii przerzutowego raka nerki [118-120]. Do czasu odkrycia leków antyangiogennych popularny był schemat leczenia zawansowanego raka nerki skojarzoną immuno-chemioterapią w schemacie hanowerskim - IL-2 z INF-α i 5-Fluorouracylem. Został on zaproponowany przez Atzpodieg i wsp. z Hanoweru . Szczególnie dobrą odpowiedź wykazano w przypadku przerzutów umiejscowionych w płucach i kościach [121]. Leczenie według tego schematu było obarczone stosunkowo małą liczbą powikłań i można było je prowadzić w trybie ambulatoryjnym. Niestety wyniki były nadal dalekie od oczekiwań.

1.1.8.2. Leki hamujące angiogenezę.

Do uznanych leków antyangiogennych obecnie należą sorafenib, sunitinib, bevacizumab, temsirolimus i everolimus.

Sunitinib jest inhibitorem kinazy tyrozynowej, selektywnie blokuje receptory PDGFR, VEGFR, KIT and FLT-3 wpływając na zahamowanie angiogenezy i rozwój guza. Badania przedkliniczne i kliniczne wykazały skuteczność sunitinibu wobec nowotworów podścieliskowych przewodu pokarmowego i raka nerki. W niedawno zakończonym badaniu III fazy leczenie sunitinibem wykazało zdecydowanie większe korzyści niż interferonem-α [122].

Sorafenib jest doustnym lekiem, inhibitorem kinaz Raf, receptora PDGFβ (PDGFRβ), receptorów VEGF typu 1, 2 i 3, kinazy tyrozynowej podobnej do białka FMS (kinazy Flt-3) oraz białka C-KIT i kinazy tyrozynowej RET. Duże randomizowane badanie kliniczne TARGET, wykazało, że średni czas przeżycia bez postępu choroby pacjentów leczonych sorafenibem wyniósł 5,5 miesiąca w porównaniu z 2,8 miesiąca u pacjentów, którzy otrzymywali placebo. Odpowiedzi na leczenie poszczególnych pacjentów były dużo lepsze. Wyniki te zdecydowały o uznaniu Sorafenibu za lek drugiego rzutu w przerzutowym raku nerki [123].

Bevacizumab jest rekombinowanym przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1 neutralizującym wszystkie główne izoformy VEGF (m.in. VEGF121, VEGF165, VEGF181, VEGF206), uniemożliwiając im połączenie z powierzchniowymi receptorami VEGFR. Bevacizumab jest humanizowanym przeciwciałem zawierającym 93% elementów ludzkiego przeciwciała i 7% mysiego. Jak już wspominałem wyżej lek ten pokazał większą skuteczność leczenia w skojarzeniu z INF-α niż interferon w monoterapii. W kombinacji z INF-α bevacizumab jest lekiem pierwszego rzutu u chorych z przerzutowym rakiem nerki w grupie dobrego ryzyka [124].

Temsirolimus jest specyficznym inhibitorem kinazy szlaku m-TOR (mammalian target of rapamycin), pochodną rapamycyny. Rapamycyna nazywana inaczej sirolimusem jest naturalnym antybiotykiem makrolidowym produkowanym przez szczepy bakterii z gatunku Streptomyces higroscopicus. Obecnie lek ten jest zalecany przez EAU w terapii pierwszego rzutu dla chorych z rozsianym rakiem nerki, ze złymi czynnikami prognostycznymi.

Everolimus jest doustnym inhibitorem kinazy szlaku m-TOR. Środek ten uznano za lek drugiego rzutu w razie wcześniejszego niepowodzenia leczenia inhibitorami kinaz przerzutowego raka nerki [125].

Tabela 1 Rekomendacje EAU dla leczenia systemowego pierwszego i drugiego rzutu w rozsianym raku nerki [126].

Terapia	Ryzyko lub wcześniejsza terapia	Zalecane postępowanie
Pierwszego rzutu	Niskie lub pośrednie ryzyko	Sunitinib Bevacizumab + INF-α
	Wysokie ryzyko	Temsirolimus
Drugiego rzutu	Wcześniej cytokiny	Sorafenib
	Wcześniej inhibitory VEGFR	Everolimus

1.1.9. Nomogramy przeżycia chorych z powodu raka nerki miejscowo zaawansowanego.

Trudny do przewidzenia przebieg raka nerki stanowi wyzwanie dla wielu badaczy. Poszukując prognostycznych wskaźników mogących przewidzieć przebieg raka badacze doszli do wniosku, że należy brać pod uwagę grupy czynników powiązanych ze sobą, tak aby zwiększyć prawdopodobieństwo przewidywanego przebiegu choroby. Na bazie takich rozważań powstało szereg matematycznych modeli przewidujących zachowanie się guza w zależności od wielu czynników. Obecnie do najpopularniejszych należą nomogramy Kattana z 2001r., system oceny zaproponowany przez badaczy z uniwersytetu w Los Angeles (UISS) oraz system oceny stosowany w Klinice Mayo na Florydzie. (SSIGN).

Nomogramy Kattana były skonstruowane w celu wyznaczenia czasu wolnego od wznowy nowotworu (disease free survival DFS) na bazie 601 pacjentów poddanych nefrektomii z powodu miejscowo zaawansowanego rana nerki – N0,M0. Do czynników włączonych do badania należały: 1. Objawy kliniczne (bezobjawowy, objawy miejscowe, objawy uogólnione), 2. Rodzaj histologiczny guza (chromofobowy, brodawkowy, jasnokomórkowy), 3. Rozmiar guza (0d1 do 22 cm) 4. Stopień zaawansowania TNM z 1997r. (pT1,pT2, pT3a, pT3b-c) [127]. Na swojej grupie pacjentów Kattan stwierdził 5 letnie przeżycia wolne od wznowy na poziomie 86%, a wieloczynnikowa analiza dowiodła, że tylko wielkość i podtyp histologiczny guza były zdolne niezależnie przewidywać przeżycia(DFS).

Badacze z Uniwersytetu Los Angeles w Kalifornii (ang.ULCA) pod przewodnictwem Zismana zaproponowali alternatywny system oceny. Podzielili oni pacjentów na pięć grup ryzyka i wzięli pod uwagę 1. Ocenę stanu klinicznego zaproponowaną przez Estern Cooperative Oncological Group (ECOG), 2. Stopień złośliwości komórkowej G według Fuhrmana, 3. Stopień zaawansowania guza TNM z 1997r. Nomogram powstał na bazie obserwacji 661 pacjentów, których poddano nefrektomii z powodu guza nerki. Zastosowanie nomogramu u pacjentów poddanych radykalnej nefrektomii

miejscowo zaawansowanego guza z intencją wyleczenia pozwoliło na wyodrębnienie trzech grup ryzyka. Pierwsza grupa niskiego ryzyka progresji i śmierci z powodu raka nerkowo komórkowego. Druga grupa średniego ryzyka. Trzecia grupa wysokiego ryzyka [128]. Algorytm z Los Angeles był walidowany przez Hana i wsp. [19]. Do badania włączono pacjentów z trzech referencyjnych ośrodków – w Njimegen w Holandii oraz Houston i Los Angeles w USA. Duże badanie przeprowadzone przez Patarda i wsp. [32] na ponad 4 tysiącach pacjentów z 8 akademickich ośrodków w Europie i USA potwierdził wartość prognostyczną założeń metody w miejscowo zaawansowanym raku nerki.

W celu określenia przeżyć związanych z rakiem jasnokomórkowym nerki uczeni z Kliniki Mayo na Florydzie zaproponowali system oceny zaawansowania guza w oparciu o stopień klinicznego zaawansowania (ang. stage), wielkość guza (ang. size), stopień złośliwości komórkowej (ang. grade) i obecność martwicy guza (ang. necrosis). Budując algorytm wzięto pod uwagę tylko czynniki, które miały samodzielnie wartość prognostyczną w wieloczynnikowej analizie statystycznej – system TNM z 1997r, wielkość guza powyżej lub równe 5 cm., stopień złośliwości G według Fuhrmana oraz obecność mikroskopowej martwicy w obrębie guza. Do badania włączono 1801 pacjentów operowanych z powodu raka nerki w Klinice Mayo w latach 1979 – 1998. Pacjenci w zależności od powyższych parametrów mieli według założonego algorytmu przydzielaną punktację i zgodnie z nią zostali podzieleni na 10 grup prognostycznych w zakresie przeżyć związanych z chorobą [129].

2. CELE PRACY.

W oparciu o dostępne piśmiennictwo krajowe i zagraniczne założono, że przeżycie ogólne, jak i związane z guzem jest w dużej mierze powiązane ze wskaźnikami prognostycznymi w raku nerki. Przyjęto założenie, że na wynik leczenia raka jasnokomórkowego nerki ma wpływ zaawansowanie guza, stopień złośliwości oraz jego wielkość w chwili postawienia rozpoznania.

W związku z tymi założeniami przyjęto następujące cele pracy:

1. Analiza zmian parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi obwodowej po 6 dniach i 6 miesiącach od zabiegu w odniesieniu do wartości wyjściowych przed zabiegiem.
2. Ocena wpływu poziomu morfologii oraz parametrów biochemicznych krwi obwodowej : LDH, żelaza, cholesterolu całkowitego, kreatyniny, CRP, IL-6 na przeżycia całkowite (OS) i związane z chorobą (CSS) u chorych z miejscowo zaawansowanym guzem poddanych radykalnej nefrektomii.
3. Ocena wartości IL-6 i CRP oraz badanych parametrów krwi obwodowej jako wskaźników rokowniczych w monitorowaniu przebiegu miejscowo zaawansowanego raka nerki.
4. Ocena wartości prognostycznej parametrów histologicznych guza w odniesieniu do czasu przeżycia całkowitego (OS) i związanego z chorobą (CSS).

3. MATERIAŁ I METODA

3.1. Pacjenci.

Analizie poddano 89 chorych 34 kobiety i 55 mężczyzn w wieku od 30 do 81 lat (średnia wieku 60,08 ± 9,99 lat), leczonych operacyjnie z powodu guza nerki w Klinice Urologii i Onkologii Urologicznej Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w okresie od maja 2004 do lutego 2005r. Chorzy byli w dobrym stanie ogólnym, żaden nie prezentował przewlekłej choroby zapalnej, nie przechodził hemodializ, transfuzji krwi, rentgenoterapii, chemioterapii czy immunoterapii przed operacją. Wszyscy pacjenci mieli rozpoznaną chorobę nowotworową nerki w badaniach obrazowych ultrasonografii (USG) i tomografii komputerowej (TK). Do grupy badanej wyselekcjonowano pacjentów z miejscowo-zaawansowaną chorobą (T1 do T3) bez zmian w węzłach chłonnych (N0), bez przerzutów odległych (M0).

W **tabeli 2** przedstawiono charakterystykę występowania raka jasnokomórkowego nerki z uwzględnieniem podziału na płeć. Wykazano, że w grupie 89 chorych objętych badaniem nowotwór występował u 34 kobiet i 55 mężczyzn. Dokonano podziału na dwie grupy z uwzględnieniem pacjentów którzy przeżyli i tych którzy zmarli podczas prowadzonych w tym badaniu obserwacji. Stwierdzono, że grupa chorych którzy zmarli stanowiło 6 kobiet i 9 mężczyzn natomiast w grupie badanych, którzy przeżyli występowało 28 kobiet i 46 mężczyzn.

Tabela 2. Występowanie raka jasnokomórkowego nerki dla całej grupy badanej oraz z podziałem na pacjentów żyjących i tych którzy nie przeżyli.

Płeć	Cała grupa N=89	Przeżyli N=74	Nie przeżyli N=15
Kobiety	34	28	6
Mężczyźni	55	46	9

Ocenie poddano również anatomiczne położenie guza u chorych objętych badaniem. Obserwowano zdecydowaną przewagę położenia prawostronnego raka jasnokomórkowego nerki w całej grupie badanej zarówno wśród pacjentów którzy przeżyli i tych którzy zmarli. Nowotwór występował w 48 przypadkach po stronie prawej, a w 41 po stronie lewej. Wyniki umieszczono w **tabeli 3.**

Tabela 3. Występowanie raka jasnokomórkowego nerki w zależności od lokalizacji guza.

Lokalizacja	Cała grupa N=89	Przeżyli N=74	Nie przeżyli N=15
Prawostronny	48	38	10
Lewostronny	41	36	5

Usunięte w trakcie nefrektomii nerki były poddawane badaniu histopatologicznemu w Pracowni Histopatologii Szpitala Miejskiego przy ul. Szwajcarskiej w Poznaniu. Do oceny stopnia zaawansowania klinicznego guza zastosowano klasyfikację TNM z 2002r. a stopień złośliwości nowotworu oceniano zgodnie ze skalą Fuhrmana. Przykliniczna pracownia histopatologiczna korzysta ze skróconej trzystopniowej klasyfikacji Fuhrmana. W stopniu pierwszym (G1), komórki guza zawierają małe okrągłe jądra z ledwie dostrzegalnymi lub nieobecnymi jąderkami. W stopniu drugim (G2), jądra są większe o nieregularnych granicach z wyraźnie zaznaczonymi jąderkami. W stopniu trzecim (G3) jądra komórkowe są duże, nieregularne z wyeksponowanymi, dużymi jąderkami, które mogą być rozbudowane i wielopłatowe.

Klasyfikacji stopnia złośliwości nowotworu wg. UICC z 2002r (TNM) z podziałem na grupy badane umieszczono w **tabeli 4**. Najniższy stopień zaawansowania klinicznego T1 obserwowano u 47 chorych, T2 u 23 pacjentów, a najbardziej zaawansowaną formę raka w obrębie badanej grupy T3 stwierdzono w 19 przypadkach. Na uwagę zasługuje fakt, że u chorych, którzy zmarli zaawansowanie choroby T3 występowało aż u 8 pacjentów. Nie

stwierdzono w całej grupie badanej (N=89) występowania przerzutów zarówno do węzłów chłonnych jak i przerzutów odległych (N0M0), dlatego nie umieszczono danych określających N - węzły i M - przerzuty, w tabeli 8.

Tabela 4. Klasyfikacji stopnia złośliwości nowotworu wg UICC z 2002r (TNM)[130].

TNM	Cała grupa N=89	Przeżyli N=74	Nie przeżyli N=15
T1	47	44	3
T2	23	19	4
T3	19	11	8

Charakterystykę patologiczną z uwzględnieniem stopnia złośliwości nowotworu (G) umieszczono w **tabeli 5.** Przyjęto skróconą trzystopniową wersję według Fuhrmana. Zgodnie z jej założeniami w obrębie badanej grupy wyodrębniono 27 pacjentów ze stopniem złośliwości G1, 47 pacjentów ze stopniem złośliwości G2 oraz 15 pacjentów z najbardziej niekorzystnym stopniem G3. Wyodrębniona grupa pacjentów, którzy przeżyli licząca 74 osoby charakteryzowała się występowaniem stopnia złośliwości komórkowej G1 u 25 chorych, G2 u 42 chorych i G3 u 7 chorych. Największą grupę pacjentów, którzy zmarli z powodu guza nerki stwierdzono u chorych ze stopniem złośliwości G3.

Tabela 5. Charakterystyka stopnia złośliwości nowotworu Fuhrmana (G) w grupie objętej badaniem.

G	Cała grupa N=89	Przeżyli N=74	Nie przeżyli N=15
1	27	25	2
2	47	42	5
3	15	7	8

Ocenie poddano również wielkość guza nerki w całej grupie badanej. Na podstawie przeprowadzonej analizy stwierdzono, że wielkość guza mieściła się w granicach od 2 do 16 cm. w grupie chorych liczącej 74 pacjentów, którzy przeżyli minimalny rozmiar guza wynosił 2 cm. a maksymalny 14 cm. podobne wartości odnotowano dla chorych, którzy zmarli z powodu nowotworu nerki. Minimalna wielkość dla tej grupy badanej wyniosła 3 cm. a maksymalna 16 cm. Charakterystykę rozkładu wielkości guza w prezentowanych grupach przedstawia **tabela 6.**

Tabela 6. Wielkość guza (w centymetrach) w poszczególnych grupach badanych.

Wielkość guza (w cm)	Cała grupa badana N=89	Przeżyli N=74	Nie przeżyli N=15
Minimalna	2	2	3
Maksymalna	16	14	16

Na podstawie obserwacji stwierdzono, że zgon wystąpił u 15 pacjentów objętych badaniem. Wśród przyczyn zgonu wymienić należy zawał (N=3), udar mózgu (N=1) oraz u 11 chorych przyczyną zgonu był rozwój raka jasnokomórkowego nerki.

Wszyscy pacjenci objęci badaniem mieli wykonaną morfologię, oznaczony poziom kreatyniny, cholesterolu całkowitego, żelaza, dehydrogenazy mleczanowej, białka C-reaktywnego oraz interleukiny – 6. Badania te miały na celu poszukiwanie mało kosztochłonnych, łatwo dostępnych czynników rokowniczych w raku nerki miejscowo zaawansowanym. Podjęte badania stanowią próbę określenia, czy któryś z badanych parametrów może przybliżyć nam ocenę rokowania co do przeżycia i postępu choroby, tak aby można było wyselekcjonować grupę pacjentów wymagających uzupełniającego leczenia. Ocenie poddano korelację wyszczególnionych parametrów krwi obwodowej w stosunku do ogólnego jak i specyficznego dla raka czasu przeżycia.

3.2. Pobieranie krwi oraz oznaczenia parametrów morfologii i biochemii krwi obwodowej.

Pacjenci ze zdiagnozowanym w badaniach obrazowych guzem nerki przyjęci do Katedry i Kliniki Urologii i Onkologii Urologicznej Akademii Medycznego w Poznaniu byli proszeni o zapoznanie się z protokołem badania, który został wcześniej zaakceptowany przez Komisję Bioetyczną przy Akademii Medycznej. Chorym, którzy wyrazili chęć uczestnictwa w w/w badaniach dzień przed planowanym zabiegiem operacyjnym usunięcia raka nerki pobierano 10 ml krwi „na skrzep przy pomocy zestawu Monovette™". Krew była następnie odwirowana w standardowych warunkach. Po odwirowaniu surowica była rozlewana po 1 ml do 10 probówek typu Eppendorf™ i następnie mrożona w temperaturze -20°C. Analogicznie podczas hospitalizacji w oddziale urologicznym w szóstej dobie po operacji nefrektomii oraz podczas wizyty kontrolnej 6 miesięcy po hospitalizacji przeprowadzano ponownie procedurę pozyskiwania surowicy. Serie surowic oznaczone były kolejno: x_0 – przed zabiegiem, x _6 - 6 dni po zabiegu, x_6m - 6 miesięcy po zabiegu.(w miejsce x zostają podstawione badane parametry).

Badania hematologiczne oraz biochemiczne: morfologię krwi obwodowej, oznaczenie poziomu żelaza, dehydrogenazy mleczanowej, cholesterolu całkowitego i poziomu kreatyniny wykonano wg. standardowej procedury laboratorium Szpitala Miejskiego im. J. Strusia w Poznaniu.

3.2.1. Morfologia krwi obwodowej

Analizę morfologii krwi obwodowej przeprowadzono przy użyciu automatycznego analizatora hematologicznego CELL-DYN 3700 (Abbott, USA).

Pomiar stężenia hemoglobin przebiegał w kanale hemoglobinowym analizatora z zastosowaniem metody kolorymetrycznej, po uprzedniej lizie erytrocytów i przekształceniu uwolnionej hemoglobiny w stabilny chromogen. Pomiar absorbancji proporcjonalnej do stężenia hemoglobiny odbywał się przy długości fali λ 540 nm.

Liczba krwinek białych była określana w kanale optycznym i impedancyjnym, analizatora przy użyciu metody wolumetrycznej i impedancji

elektrycznej. Subpopulacje leukocytów (granulocyty obojętnochłonne, limfocyty) były analizowane w oparciu o pomiar rozproszonego pod różnymi kątami światła laserowego i technikę cystometrii przepływowej. Do określenia liczby erytrocytów i płytek wykorzystana była metoda wolumetryczna i impedancji elektrycznej.

3.2.2. Aktywność LDH

Aktywność LDH w surowicy oznaczono metodą kinetyczną, przy użyciu zestawu odczynnikowego Enzyline® LDH optimise 10:

Zasada metody:

Aktywność LDH oznaczano metodą kinetyczną, wykorzystując pirogronian jako substrat, wg. reakcji:

$$\text{pirogronian} + \text{NADH} + H^+ \quad \leftarrow \text{LDH} \rightarrow \quad \text{L-mleczan} + NAD^+$$

Pomiar spadku absorbancji przebiegał przy długości fali λ 340 nm.

Wartości referencyjne 200 – 480 U/l

3.2.3. Stężenie żelaza

Stężenie żelaza w surowicy oznaczono metodą kolorymetryczną, przy użyciu zestawu odczynnikowego Ferentest (bioMerieux, Francja) i analizatora Konelab 30i (Konelab, Finlandia).

Przebieg reakcji:

Fe^{3+} - transferyna $\xrightarrow{\text{Guanidyna - HCl}}$ Fe^{3+}

Fe^{3+} $\xrightarrow{\text{Kwas askorbinowy}}$ Fe^{3+}

Fe^{2+} $\xrightarrow{\text{FereneS®}}$ Barwny kompleks

Pomiar absorbancji przebiegał przy długości fali λ 593 nm.

Wartości referencyjne: 10,69 – 28,3 µmol/l

3.2.4. Stężenie kreatyniny

Poziom kreatyniny oznaczono metodą kolorymetryczną Jaffe z próbą ślepą i kompensacyjną.

Zasada metody:

Kinetyczny test kolorymetryczny

- Próba z dodatkiem R1 (wodorotlenek sodu)
- Dodanie R2 (kwas pikrynowy) i rozpoczęcie reakcji

Kreatynina + kwas pikrynowy $\xrightarrow{\text{środowisko alkaliczne}}$ kompleks kreatynina kwas pikrynowy

W alkalicznym środowisku powstaje żółtopomarańczowy kompleks pikrynianu. Natężenie barwy powstałego produktu jest proporcjonalne do stężenia kreatyniny i może być zmierzony fotometrycznie. Test wykonany z użyciem próby ślepej minimalizuje interferencje ze strony bilirubiny.

Wartości referencyjne: 62 – 106 µmol/l

3.2.5. Stężenie cholesterolu.

Stężenie cholesterolu mierzono za pomocą testu CHOD – PAP firmy Roche.

Zasada testu:

Enzymatyczna zasada kolorymetryczna

- Próba z dodatkiem R1 i rozpoczęcie reakcji. Cholesterol jest oznaczony metodą enzymatyczną z użyciem esterazy cholesterolowej i oksydazy cholesterolowej.

  Estry cholesterolu $+H_2O \xrightarrow{\text{cholesterol / esteraza}}$ cholesterol + RCOOH

Esteraza cholesterolowa(CE) hydrolizuje estry cholesterol do wolnego cholesterol i kwasów tłuszczowych.

Cholesterol + $O_2 \xrightarrow{\text{cholesterol / oksydaza}}$ cholest-4-en-3-on + H_2O_2

Cholesterol jest przekształcany w obecności tlenu i oksydazy cholesterolowej do cholest-4-en-3-onu i nadtlenku wodoru.

$2H_2O_2$ + 4-aminofenazon + fenol $\xrightarrow{\text{peroksydaza}}$ 4-(p-benzochino-monoimino)-fenazon + 4 H_2O

Nadtlenek wodoru reaguje z 4-aminofenazonem i fenolem w obecności peroksydazy dając barwny związek. Natężenie barwy powstałego produktu jest proporcjonalne do stężenia cholesterolu i może być zmierzone fotometrycznie.

R1 - Bufor PIPES (piperazyna-N-N`-bis(kwas 2-etanosiarkowy)): 75mmol/l, pH 6,8; Mg^{2+}: 10mmol/l; sól sodowa kwasu żółciowego: 0.2 mmol/l; 4-aminofenazon ≥0.15 mmol/l; fenol ≥ 4.2 mmol/l; ester alkilowy glikolu polipropylenowego: 1%; esteraza cholesterolowa (Pseudomonas spec.) ≥ 0.15 U/ml (8.33 µkat/l); oksydaza cholesterolowa (E.coli) ≥ 0.15 U/ml (2.5 µkat/l); peroksydaza (chrzan) ≥0.25 U/ml (4.17 µkat/l); stabilizatory; konserwant.

Wartości referencyjne: 3,38 - 5.2 mmol/l

3.3. Oznaczenie ilościowe białka ostrej fazy (CRP) metodą immunoelektroforezy rakietkowej.

Odczynniki: Bufor (pH=8,6) do oznaczenia CRP, bezpośrednio przed użyciem 10-krotnie rozcieńczono. Przygotowanie rozcieńczeń: Surowice badane i standardy rozcieńczono w buforze (**Tabela 7**)

Elektroforeza: Rozpuszczono 1 gram agarozy w buforze do oznaczenia CRP całość zagotowano. Do probówki przelano 10 ml żelu agarozowego i dodano odpowiednią ilość przeciwciała. Po wymieszaniu wylano na płytkę szklaną. Po zastygnięciu żelu wycięto 3µl studzienki, do których nałożono odpowiednio rozcieńczone standardy i surowice badane. Płytki umieszczono w aparacie do elektroforezy, zawierającym bufor dla CRP podłączono napięcie 80V na 18 h.

Pomiar: Po wysuszeniu, żel wybarwiono przy zastosowaniu barwnika , wyniki odczytano przy zastosowaniu metody planimetrycznej. Wartości referencyjne wg. Eur. J. Clin Chem Clin Biochem wynoszą dla CRP do 5 mg/l.

Tabela 7. Rozcieńczenia standardów i próbek badanych przy oznaczaniu CRP.

Rodzaj badania	Rozcieńczenia Standardu	Rozcieńczenia Próbek
CRP	1:2, 1:4, 1:8	1+1

3.4. Ocena stężeń IL-6 w badanych surowicach.

Ilościowy pomiar ludzkiej IL-6 wykonany został za pomocą techniki sandwich ELISA (Enzyme Linked Immuno-Sorbent Assay), przy użyciu kompletnego zestawu do oznaczeń firmy R&D Systems. Każdy zestaw składał się z mikropłytki polistyrenowej zawierającej 96 dołków (studzienek) oraz z kompletu odczynników, w tym standardu (rekombinowanej ludzkiej IL-6). Powierzchnia studzienek była opłaszczona przeciwciałem monoklonalnym swoistym dla IL-6. Zestaw przechowywano w zalecanym przez producenta zakresie temperatur (2-8℃).

Standard oraz badane próbki surowicy przenoszono do opłaszczonych przeciwciałem studzienek. Po inkubacji, substancje niezwiązane były usuwane w procesie płukania buforem płuczącym. Następnie dodano sprzężone z enzymem (peroksydaza chrzanowa, HRP) przeciwciało poliklonalne specyficzne dla IL-6. Po inkubacji i odpłukaniu niezwiązanego konjugatu do studzienek dodawano chromogenny substrat (tetrametylobenzydyna), który pod wpływem działania sprzężonego z przeciwciałem enzymu przekształcał się w barwny produkt. Reakcję przerwano po 20 minutach i przeprowadzono kolorymetryczną detekcję intensywności zabarwienia w każdej studzience. Detekcja przeprowadzana była przy użyciu czytnika ELISA ELx808 (Bio-Tek Instruments) przy długość fali 450 nm. Czułość metody wynosi 0.70 pg/ml.

Procedurę badawczą przeprowadzono w zgodzie z zaleceniami producenta. Do opracowania wyników pomiaru użyto programu KC Junior firmy Bio-Tek.

3.5. Analizy statystyczne.

W analizie statystycznej zebrane dane dla cech ilościowych opisano za pomocą miar takich jak średnia, odchylenie standardowe, mediana, wartość minimalna i maksymalna. Do oceny zgodności rozkładów badanych cech ilościowych z rozkładem normalnym, stosowano test Shapiro-Wilka. Do określenia istotnie statystycznych różnic użyto testu Manna-Whitneya, lub testu Kruskala-Wallisa z testami porównań wielokrotnych. Analizowano również występowanie różnic między wykonanymi w czasie trzema pomiarami cech za pomocą testu Freedmana z testem Dunna dla wielokrotnych porównań. Korelację między cechami badano z zastosowaniem współczynnika korelacji Spearmana.

W badaniu przydatności wybranych cech ilościowych wykorzystano krzywe ROC (Receiver Operator Characteristics curves). Do wykreślenia krzywych przeżycia zastosowano metodę Kaplana-Meiera, a badanie różnic między krzywymi oceniano za pomocą testu log-rank. Hipotezy weryfikowano na poziomie istotności α=0,5.

Pacjenci są monitorowani od zabiegu do dnia dzisiejszego w Przyklinicznej Poradni Urologicznej w Poznaniu. Obecnie okres obserwacji wynosi od 51 do 60 miesięcy.

Na wykonanie badań wyraziła zgodę Komisja Bioetyczna przy Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

4. WYNIKI

4.1. Wartości morfologii krwi oraz wskaźników biochemicznych w grupie badanej.

Zgodnie z założeniami pracy, w całej grupie objętej badaniem wykonano oznaczenia morfologii krwi obwodowej oraz oznaczono dehydrogenazę mleczanową, poziom żelaza, cholesterolu całkowitego i kreatyniny przed zabiegiem, w szóstej dobie po zabiegu i pół roku po zabiegu.

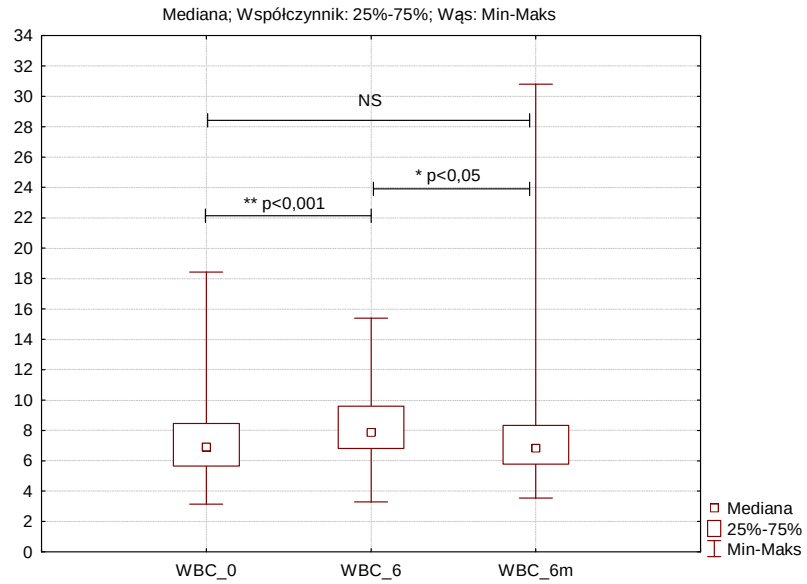
Tabela 8. Badania laboratoryjne wykonane w dzień przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.

	czas 0	po 6. dniach	po 6. Miesiącach
N	89	89	69
WBC	7,48±2,90; 6,90 (3,15 – 18,43)	8,38±2,53; 7,88 (3,2 – 15,4)	7,48±3,52; 6,84 (3.55 – 30,8)
RBC	4,57±0,57; 4,63 (3,13 – 5,78)	3,94±0,50; 3,95 (2,77 – 4,91)	4,70±0,66; 4,66 (2,56 – 7,62)
HGB	8,29±1,22; 8,30 (5,5 – 10,7)	7,20±1,06; 7,10 (5,1 – 12,4)	8,65±1,05; 8,40 (5,6 – 12,4)
HCT	40,47±5,16; 40,90 (27,8 - 49,4)	34,61±5,03; 35,00 (5,9 – 43,6)	41,99±4,93; 42,00 (28,4 – 63,0)
PLT	259,60±103,78; 239 (78,0 – 651,0)	313,39±103,48; 311 (121,0 – 583,0)	242,16±83,65; 229 (119,0 – 562,0)
LDH	346,36±102,86; 326 (169,0 – 846,0)	435,42±132,75; 416 (208,0 – 895,0)	342,80±72,60; 327 (228,0 – 597,0)
FE	17,48±9,06; 16,30 (3,5 – 39,0)	7,66±3,70; 6,80 (2,0 – 21,4)	17,64±6,64; 17,60 (3,1 – 44,5)
CHOL	5,24±1,01; 5,10 (3,2 – 8,8)	4,88±0,95; 4,80 (3,0 – 9,4)	5,84±1,13; 5,70 (3,7 – 8,9)
Cre	84,58±23,47; 81,30 (48,2 – 216,5)	110,72±38,48; 103,60 (55,3 – 331,7)	105,71±34,54; 103,40 (3,2 – 242,1)

średnia ±SD; Me (zakres wartości)

W **tabeli 8** zestawiono wyniki parametrów morfologicznych i biochemicznych krwi obwodowej. Analizując średnie wartości wskaźników laboratoryjnych wykazano obniżony poziom erytrocytów (RBC 3,94±0,50), hemoglobiny (HGB 7,20±1,06), hematokrytu (HCT 34,61±5,03), żelaza (Fe 7,66±3,70) po 6 dniach od zabiegu. Potwierdza to, że stan bezpośrednio po zabiegu operacyjnym charakteryzuje się niedoborami elementów morfotycznych krwi z uwagi na jej utratę okołooperacyjną. Okres pół roku po zabiegu jest wystarczająco długi dla pełnej odbudowy i powrotu do stanu sprzed operacji. Średnie wartości pozostałych parametrów oznaczonych przed zabiegiem, w szóstej dobie po zabiegu oraz sześć miesięcy po operacji kształtowały się w granicach normy.

Na kolejnych rycinach przedstawiono wartości poszczególnych parametrów krwi badanych w przedziałach czasowych dobę przed zabiegiem operacyjnym usunięcia nerki z powodu raka jasnokomórkowego miejscowo zawansowanego, sześć dni po operacji oraz sześć miesięcy po leczeniu zabiegowym.

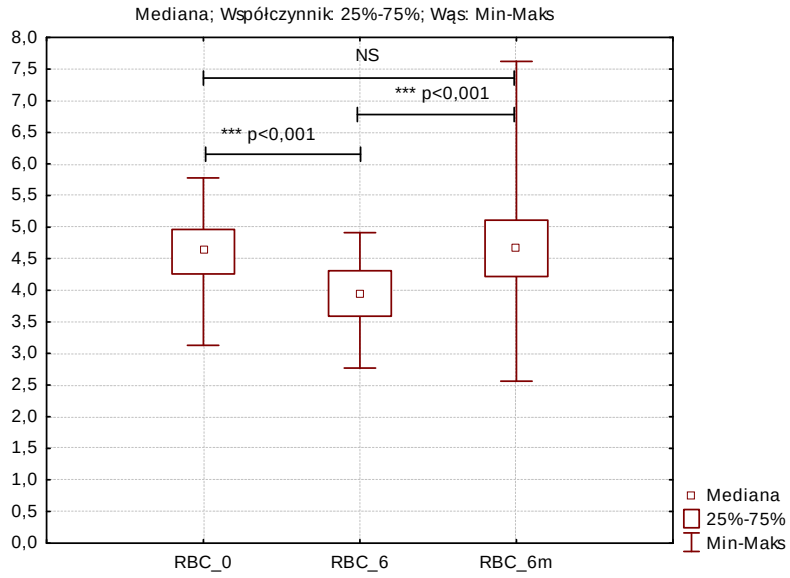


Rycina 4. Wartości leukocytów oznaczane przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesiącu po zabiegu.

Na **rycinie 4** przedstawiono wartości leukocytów badanych w krwi obwodowej u pacjentów przed zabiegiem (WBC_0), w 6 dobie po zabiegu (WBC_6) oraz 6 miesięcy po zabiegu (WBC_6m). Obserwowano statystycznie istotną różnicę między poziomem leukocytów przed zabiegiem i sześć dni po

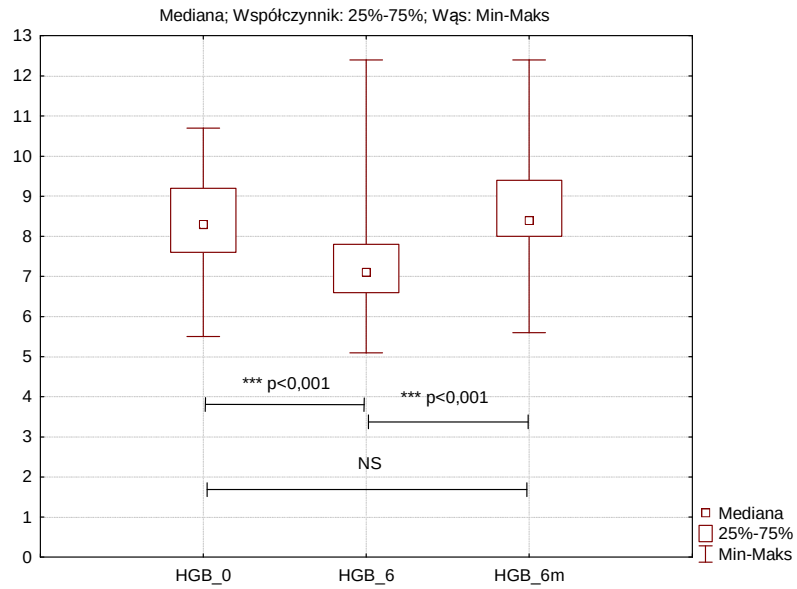
zabiegu (p<0,001) oraz między poziomem leukocytów sześć dni po zabiegu i sześć miesięcy po operacji (p<0,05). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między poziomem leukocytów przed zabiegiem i sześć miesięcy po zabiegu.

Na kolejnej **rycinie 5** przedstawiono wartości erytrocytów badanych w krwi obwodowej u pacjentów przed zabiegiem (RBC_0), w 6 dobie po zabiegu (RBC_6) oraz 6 miesięcy po zabiegu (RBC_6m). Obserwowano statystycznie istotną różnicę między poziomem erytrocytów przed zabiegiem i sześć dni po zabiegu (p<0,001) oraz między poziomem erytrocytów sześć dni po zabiegu i sześć miesięcy po operacji (p<0,001). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między poziomem erytrocytów przed zabiegiem i sześć miesięcy po zabiegu.



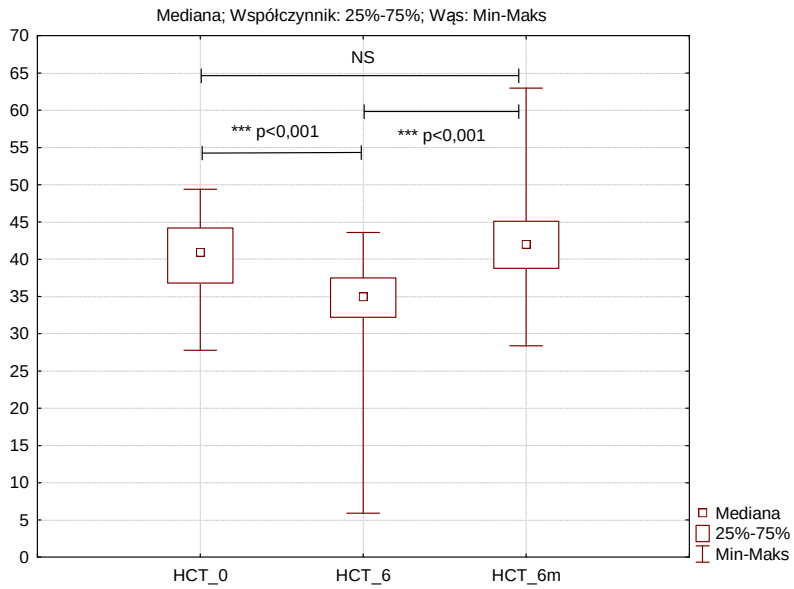
Rycina 5. Wartości erytrocytów przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu w badanej grupie pacjentów.

Na **rycinie 6** przestawiono wartości hemoglobiny (HGB) w grupie badanej przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu. Wykazano statystycznie istotne różnicę między poziomem hemoglobiny przed zabiegiem w stosunku do poziomu sześć dni po operacji oraz między poziomem hemoglobiny sześć dni po zabiegu i po sześciu miesiącach (p<0,001). Pomiędzy wartościami przed zabiegiem i sześć miesięcy po nie wykazano statystycznie istotnych różnic.



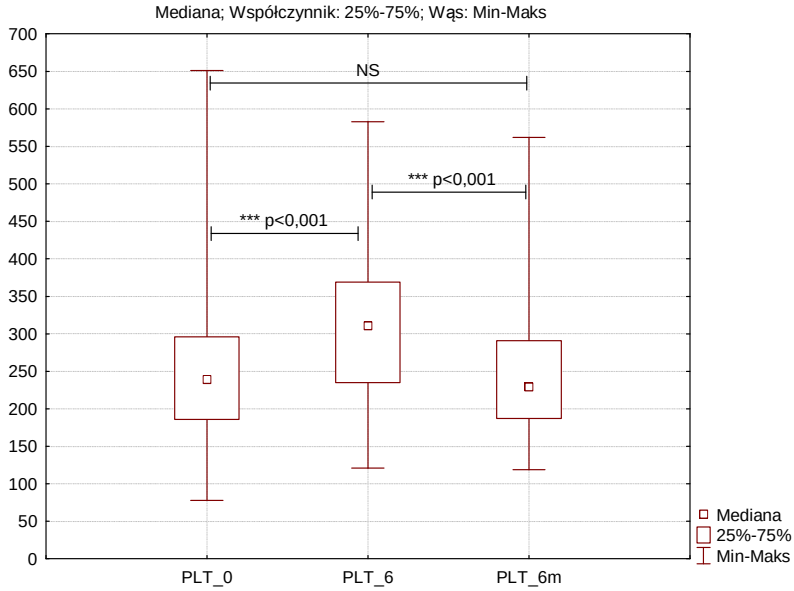
Rycina 6. Wartości hemoglobiny przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.

Na kolejnej **rycinie 7** przedstawiono wartości hematokrytu oznaczonego we krwi obwodowej u pacjentów przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu. Obserwowano statystycznie istotną różnicę między oznaczeniami przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu ($p<0,001$) oraz między badaniami w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu ($p<0,001$). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między wartościami hematokrytu przed i sześć miesięcy po zabiegu.



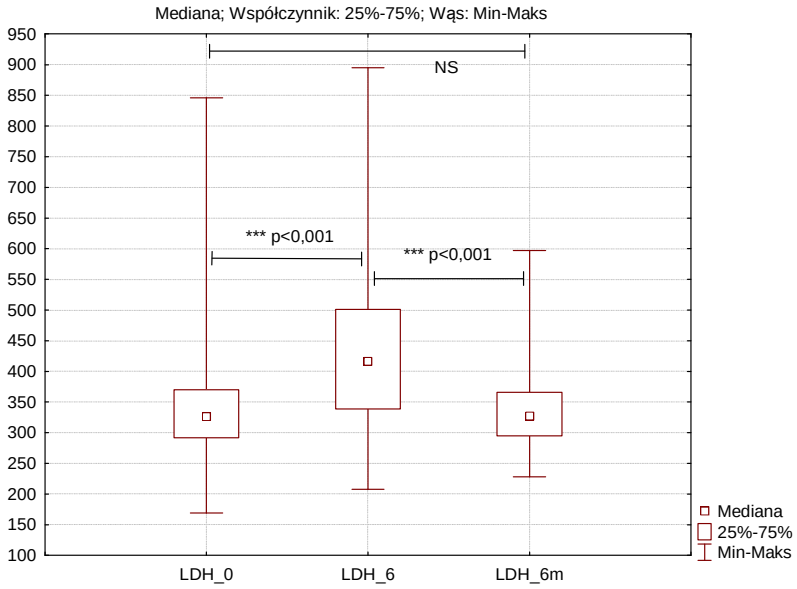
Rycina 7. Wartości hematokrytu oznaczonego we krwi obwodowej przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu.

Na poniższej **rycinie 8** przedstawiono wyniki badania krwi obwodowej w odniesieniu do płytek krwi. Wykazano statystycznie istotne różnicę między pomiarem przed zabiegiem i w 6 dobie po zabiegu (p<0,001) oraz między poziomem płytek krwi w szóstej dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu (p<0,001). Nie wykazano różnicy statystycznie istotnej między oznaczeniami przed zabiegiem oraz 6 miesięcy po zabiegu.



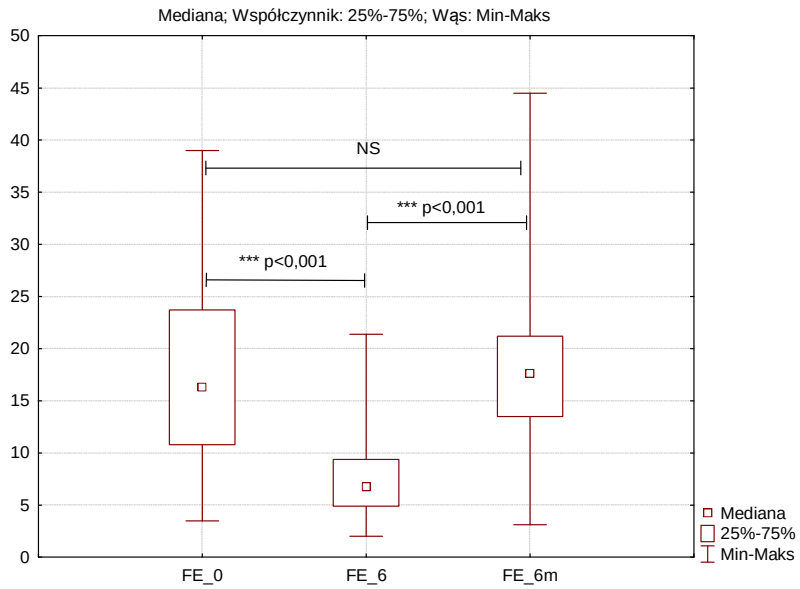
Rycina 8. Wartości płytek krwi obwodowej przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.

Poniżej, na **rycinie 9** przedstawiono wartości dehydrogenazy mleczanowej oznaczonej u pacjentów przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu. Istotna statystycznie różnica występowała pomiędzy badaniami wykonanymi przed zabiegiem oraz w 6 dobie po zabiegu (p<0,001). Oznaczenia w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu wykazywały również statystycznie istotną różnicę (p<0,001).



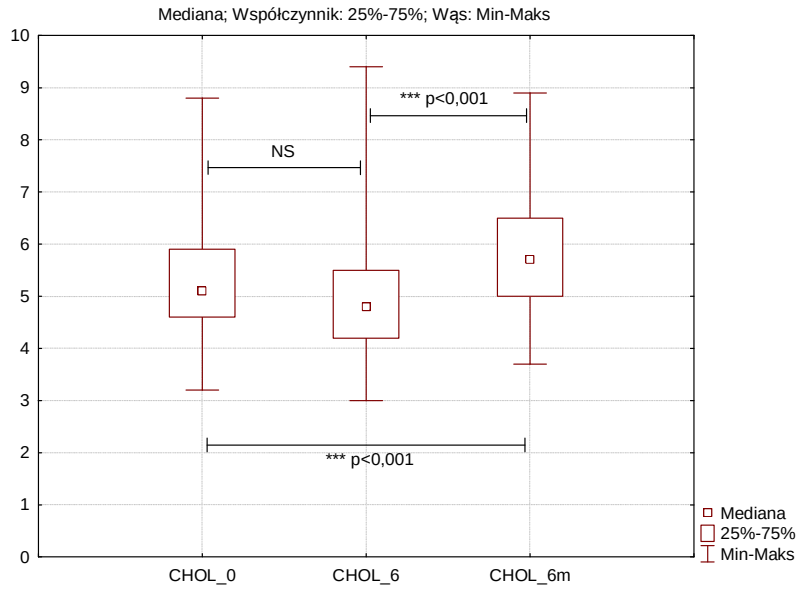
Rycina 9. Wartości dehydrogenazy mleczanowej przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.

Rycina 10 przedstawia wartości żelaza (Fe) oznaczone u chorych w trzech przedziałach czasowych. Stwierdza się istotną statystycznie różnicę między badaniem przed zabiegiem i w 6 dobie po zabiegu (p<0,001) oraz między oznaczeniem w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu (p<0,001). Brak statystycznie istotnych różnic między wartościami żelaza przed i sześć miesięcy po zabiegu.



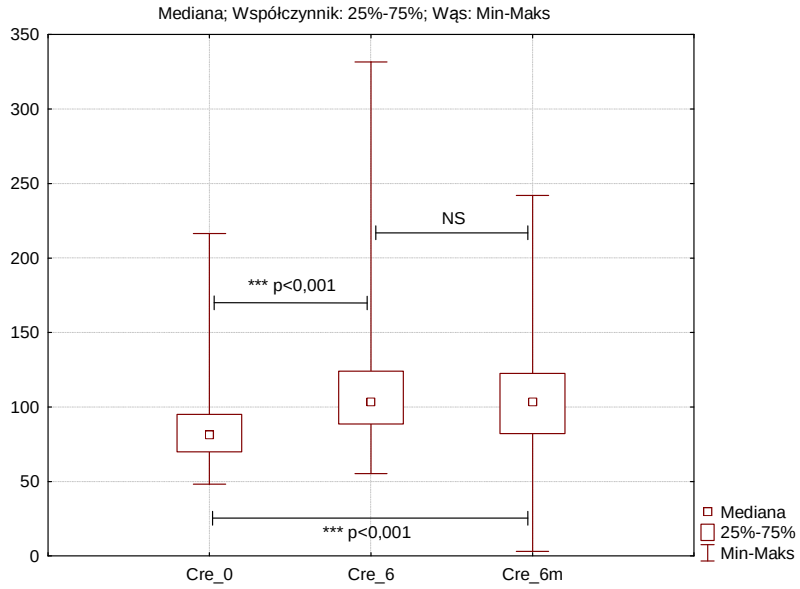
Rycina 10. Wartości żelaza przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.

Na **rycinie 11** przedstawiono wartości cholesterolu i wykazano statystycznie istotną różnicę między oznaczeniami wykonanymi przed zabiegiem oraz 6 miesięcy po zabiegu (p<0,001) oraz między oznaczeniem w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu (p<0,001). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między wynikami przed zabiegiem a 6 miesięcy po zabiegu.



Rycina 11. Wartości cholesterolu przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.

Na kolejnej **rycinie 12** przedstawiono istotne statystycznie różnice między wartościami kreatyniny oznaczonej u pacjentów przed zabiegiem i w 6 dobie po zabiegu (p<0,001) oraz między oznaczeniami przed zabiegiem i 6 miesięcy po zabiegu (p<0,001). Nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic między pozostałymi oznaczeniami.



Rycina 12. Wartości kreatyniny przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.

4.2. Analiza badań przedoperacyjnych pomiędzy grupą pacjentów żyjących a zmarłych.

Szczegółowej analizie poddano również wartości morfologii krwi obwodowej (erytrocyty, leukocyty, hemoglobinę, hematokryt oraz płytki krwi) oraz biochemiczne parametry krwi obwodowej (dehydrogenazę mleczanowa, żelazo, cholesterol oraz kreatyninę) otrzymane po badaniu przeprowadzonym przed zabiegiem z podziałem na grupę pacjentów żyjących i tych którzy zmarli. Na podstawie otrzymanych wyników wykazano statystycznie istotne zależności parametrów przed badaniem między pacjentami którzy przeżyli i tymi co zmarli. Korelacje występowały w odniesieniu do następujących wskaźników: RBC p=0,0067, HGB p=0,0076, HCT =0,0024, Fe p= 0,0027, CRP p=0,0004, IL-6 p= 0,0010. Stwierdzono wyraźnie podwyższony CRP i IL-6 przed zabiegiem, u osób którzy zmarli w porównaniu z grupą pacjentów żyjących. Nie wykazano statystycznie istotnych korelacji w stosunku do poziomu płytek krwi obwodowej,

dehydrogenazy mleczanowej, cholesterolu i kreatyniny. Wyniki umieszczono w **tabeli 9**.

Tabela 9. Wartości parametrów morfologii krwi obwodowej oraz wybranych biochemicznych wskaźników wykonane przed zabiegiem u pacjentów żyjących i tych, którzy zmarli.

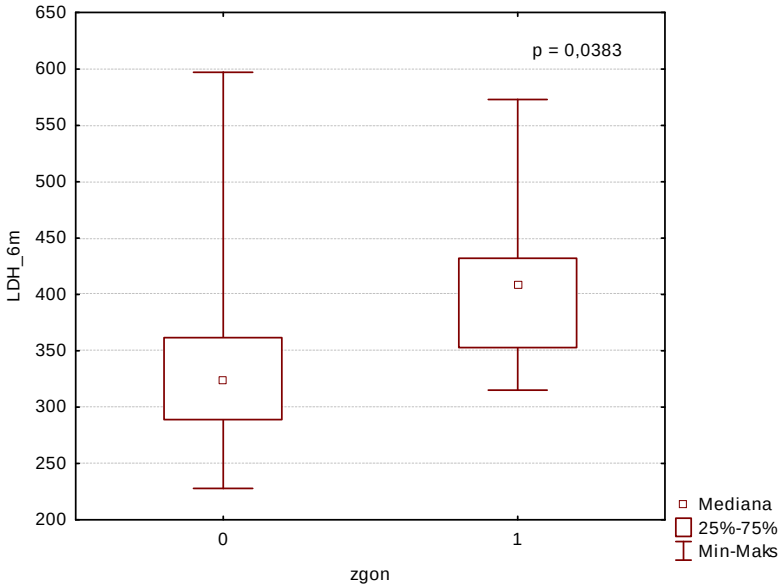
	pacjenci żyjący	pacjenci zmarli	poziom p
N	74	15	
WBC	7,27±2,72; 6,875	8,51±3,60; 7,65	0,1707
RBC	4,64±0,55; 4,71	4,22±0,55; 4,26	**0,0067**
HGB	8,47±1,10; 8,50	7,39±1,41; 7,30	**0,0076**
HCT	41,29±4,72; 41,55	36,43±5,49; 36,00	**0,0024**
PLT	249,49±83,22; 232,50	309,47±168,48; 267,00	0,2754
LDH	335,34±73,90; 325,50	400,73±184,99; 339,00	0,5107
FE	18,61±8,47; 17,00	11,89±10,11; 8,70	**0,0027**
CHOL	5,28±0,99; 5,20	5,08±1,15; 5,00	0,5391
Cre	83,31±19,21; 81,50	90,83±38,59; 79,40	0,8180
CRP	12,93±27,58; 2,95	49,70±57,49; 26,10	**0,0004**
IL-6	9,23±36,92; 0	23,46±28,80; 19,35	**0,0010**

średnia ±SD; Me (zakres wartości)

4.3. Analiza parametrów biochemicznych pooperacyjnych u pacjentów żyjących i zmarłych.

Analizując wyniki otrzymane w 6 dobie po zabiegu z uwzględnieniem podziału na grupę pacjentów którzy przeżyli i tych co zmarli nie wykazano statystycznie istotnych różnic w zakresie badanych parametrów krwi obwodowej. Natomiast stwierdzono różnice pomiędzy grupą chorych, którzy przeżyli i tymi co zmarli a wskaźnikiem dehydrogenazy mleczanowej, przy

istotności statystycznej na poziomie (p=0,0383) w 6 miesięcy po zabiegu (**rycina 13**). Zakres wartości LDH w grupie żyjących 228,0-597,0 oraz w grupie zmarłych 315,0-373,0. Pozostałe badane parametry krwi obwodowej nie wykazywały statystycznie istotnych różnic.



Rycina 13. Różnice pomiędzy grupą pacjentów którzy przeżyli i tymi co nie przeżyli a wskaźnikiem LDH oznaczonym 6 miesięcy po zabiegu.

4.4. Białko ostrej fazy C-reaktywne (CRP) oraz Interleukina 6 (IL-6) w grupie badanej.

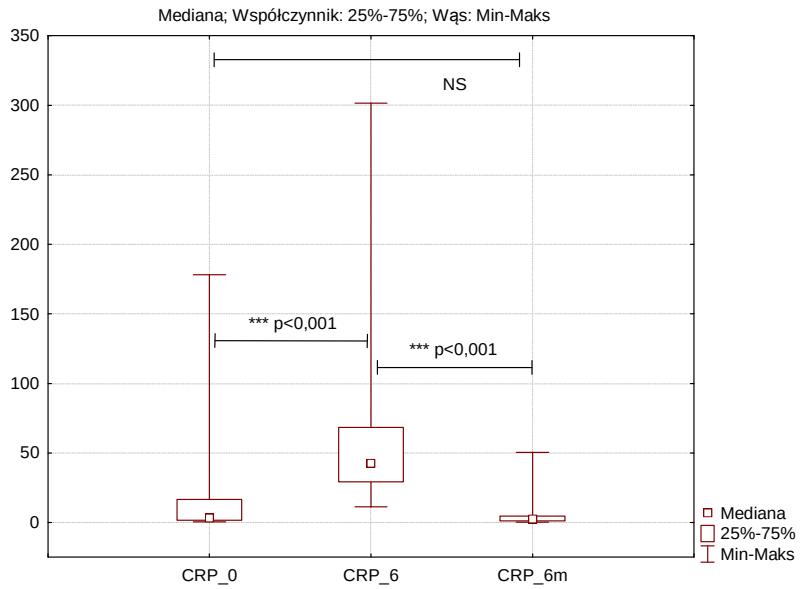
Poddano analizie białko ostrej fazy C-reaktywne (CRP) oraz interleukinę 6 (IL-6) w grupie badanej w poszczególnych przedziałach czasowych. Obserwowano wzrost średniego poziomu CRP w 6 dobie po zabiegu (CRP 61,40±57,90) oraz w tym samym czasie wzrost IL-6 (17,47±26,82). Wykazano statystycznie istotną różnicę między poziomem interleukiny 6 oraz CRP u pacjentów przed zabiegiem w stosunku do grupy 6 dni po zabiegu oraz między wynikami sześć dni po zabiegu w stosunku do wyników 6 miesięcy po operacji. W **tabeli 10** zestawiono otrzymane wyniki.

Tabela 10. Stężenie CRP i IL-6 u badanych pacjentów.

	czas 0	po 6. dniach	po 6. miesiącach	istotność p
N	89	89	69	
CRP	19,13±36,72; 3,30 (0,5 – 178,1)	61,40±57,90; 42,60 (11,4 – 301,6)	6,53±11,54; 2,30 (0,2 – 50,3)	<0,0001
IL-6	11,63±35,93; 0 (0,0 – 291,8)	17,47±26,82; 9,94 (0,0 – 135,8)	3,59±11,14; 0 (0,0 – 63,68)	<0,0001

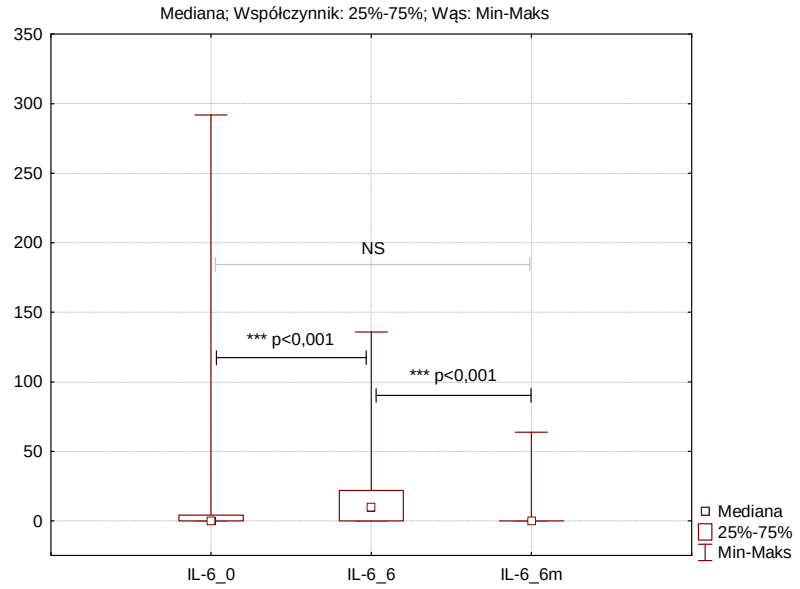
średnia ±SD; Me

Rycina 14 przedstawia statystycznie istotną różnicę w odniesieniu do białka C-reaktywnego oznaczanego przed zabiegiem i w 6 dobie po zabiegu oraz między wartościami z 6 doby po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu. Istotność statystyczna w obu wypadkach wynosiła $p<0,001$.



Rycina 14. Wartości CRP u chorych poddanych nefrektomii oznaczone przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu.

Rycina 15 przedstawia statystycznie istotne różnice stwierdzone pomiędzy wartościami IL–6 przed zabiegiem i w 6 dobie po zabiegu p<0,001. Podobny poziom istotności statystycznej stwierdzono między oznaczeniami w 6 dobie po zabiegu w stosunku do wyników sześć miesięcy po zabiegu p<0,001. Nie stwierdzono innych istotnych statystycznie różnic.



Rycina 15. Wartości interleukiny 6 u chorych poddanych nefrektomii oznaczone przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu.

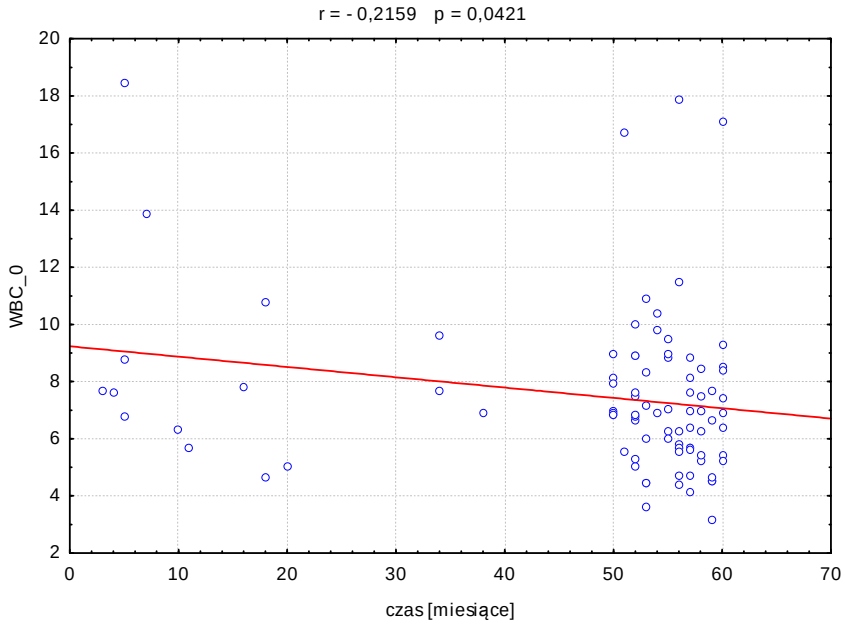
4.5. Ocena przeżycia chorych na podstawie badań biochemicznych krwi.

Postanowiono dokonać oceny zależności przeżycia pacjentów w odniesieniu do oznaczenia wybranych parametrów biochemicznych oraz morfologii krwi obwodowej. U wszystkich chorych włączonych do badania wykonano oznaczenie poziomu żelaza, kreatyniny, cholesterolu całkowitego, dehydrogenazy mleczanowej, morfologii krwi obwodowej oraz poziomu IL-6 i CRP dobę przed usunięciem nowotworowo zmienionej nerki, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po operacji. W badaniach oceniano poziom wpływu odchyleń poszczególnych parametrów na ogólne przeżycie badanych pacjentów.

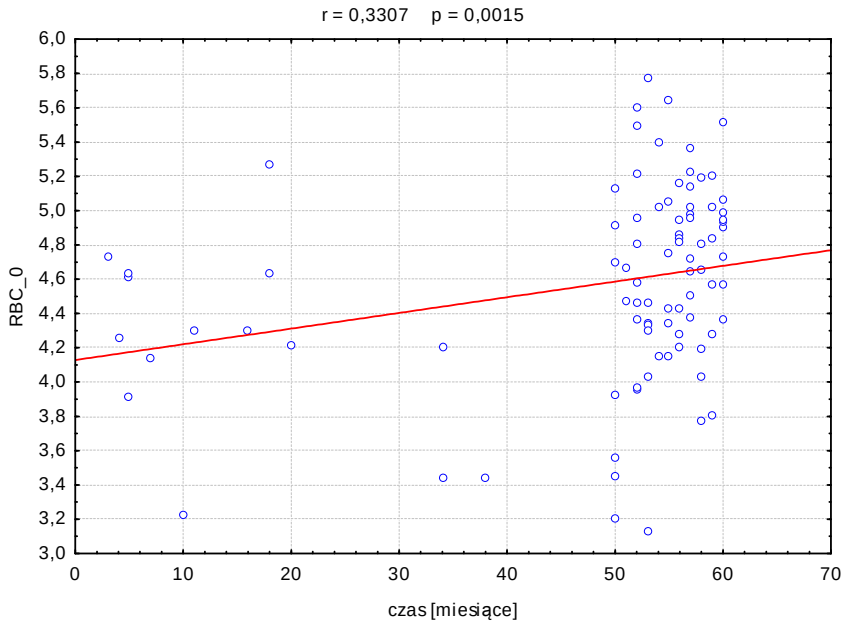
4.5.1. Ocena przeżycia chorych na podstawie badań krwi przed zabiegiem operacyjnym

Ocenie poddano parametry morfologii krwi (erytrocyty, leukocyty, hemoglobina, hematokryt, płytki krwi) oraz wybrane wskaźniki biochemiczne krwi (dehydrogenaza mleczanowa, żelazo, cholesterol i kreatyninę) oznaczone przed zabiegiem we krwi obwodowej chorych z guzem jasnokomórkowym nerki. Pośród badanych parametrów wykazano wpływ poziomu leukocytów przed zabiegiem na ogólny czas przeżycia badanych pacjentów. Na **rycinie 16** przedstawiono zależności pomiędzy wartościami leukocytów oznaczonych we krwi obwodowej przed zabiegiem operacyjnym w stosunku do ogólnego czasu przeżycia. Statystycznie istotną zależność wykazano przy p=0,042. Wartości białych krwinek mieściły się w zakresie: 3,15-18,43 G/l. **Ryciny 17 i 18** przedstawiają odpowiednio zależności między czasem przeżycia a wartościami erytrocytów i hemoglobiny oznaczonych we krwi obwodowej przed zabiegiem nefrektomii. Wartości hemoglobiny mieściły się w granicach od 3,13 do 5,78 mmol/l a erytrocytów między 5,5 -10,70 T/l. Wykazano również statystycznie istotną korelacje między poziomem hematokrytu przed zabiegiem a czasem przeżycia p=0,0003 (**rycina 19**). Wartości hematokrytu mieściły się w zakresie 27,8 – 49,4.%. Na **rycinie 20** ukazano wartości statystycznie istotne między poziomem płytek krwi we krwi obwodowej u pacjentów w grupie badanej przed zabiegiem a czasem przeżycia p=0,018. Poziom płytek krwi przed zabiegiem nefrektomii odbiegał od normy, mieścił się w granicach od 78 do 651 G/l.

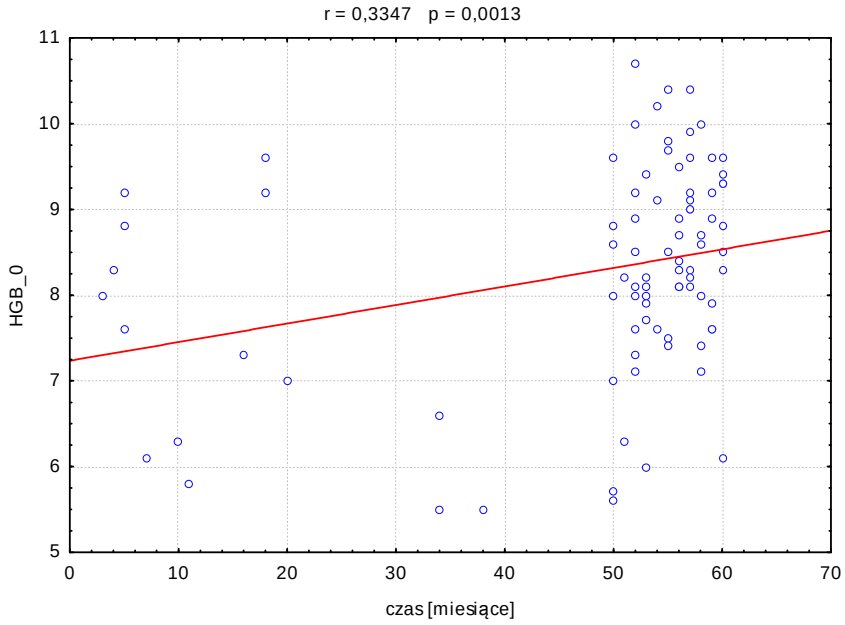
Rycina 21 przedstawia statystycznie istotne zależności między wartościami żelaza przed zabiegiem a czasem przeżycia pacjentów po nefrektomii z powodu raka nerki p<0,0001. Poziom żelaza odbiegał od normy i wynosił od 3,5-39 µmol/l.



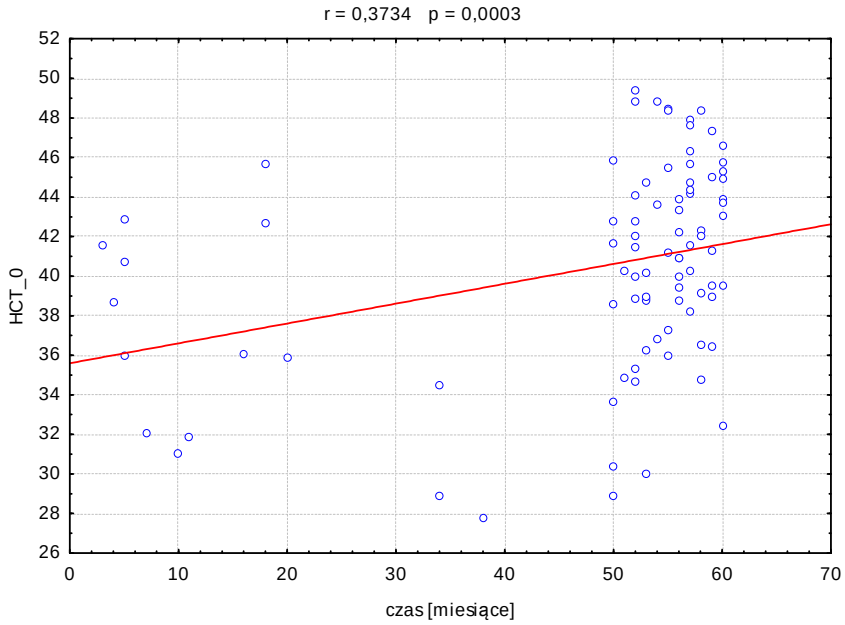
Rycina 16. Korelacje pomiędzy poziomem leukocytów przed zabiegiem a czasem przeżycia.



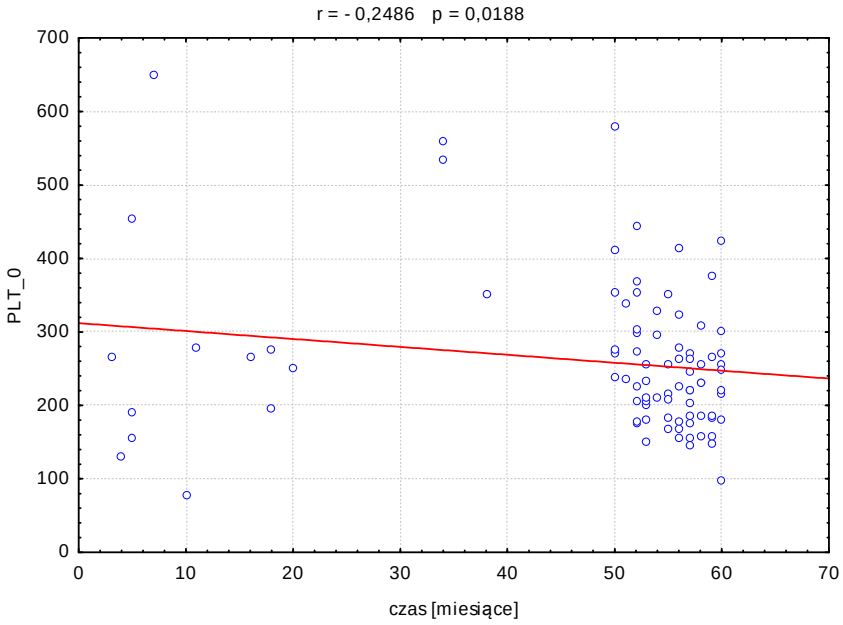
Rycina 17. Korelacje pomiędzy poziomem erytrocytów przed zabiegiem a czasem przeżycia.



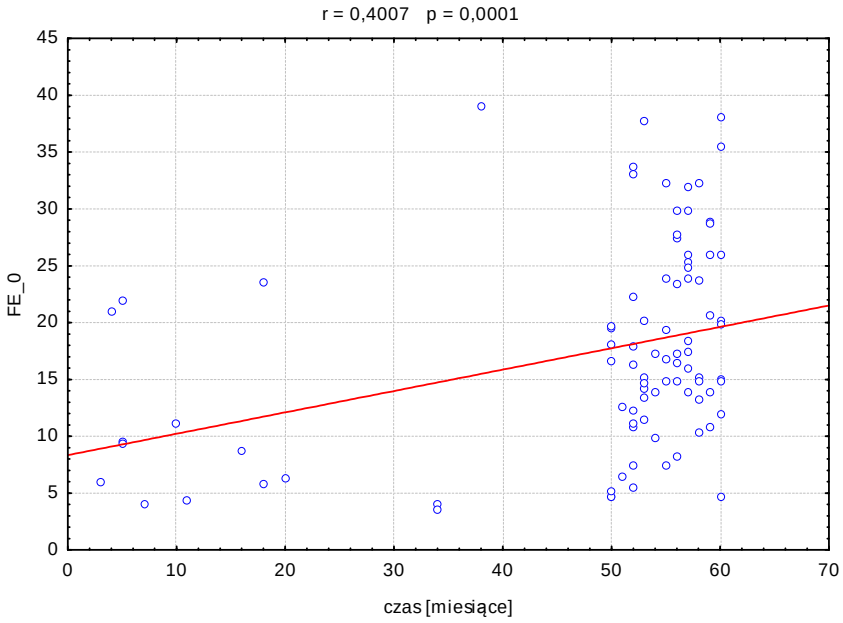
Rycina 18. Korelacje pomiędzy poziomem hemoglobiny przed zabiegiem a czasem przeżycia.



Rycina 19. Korelacja pomiędzy poziomem hematokrytu przed zabiegiem a czasem przeżycia.



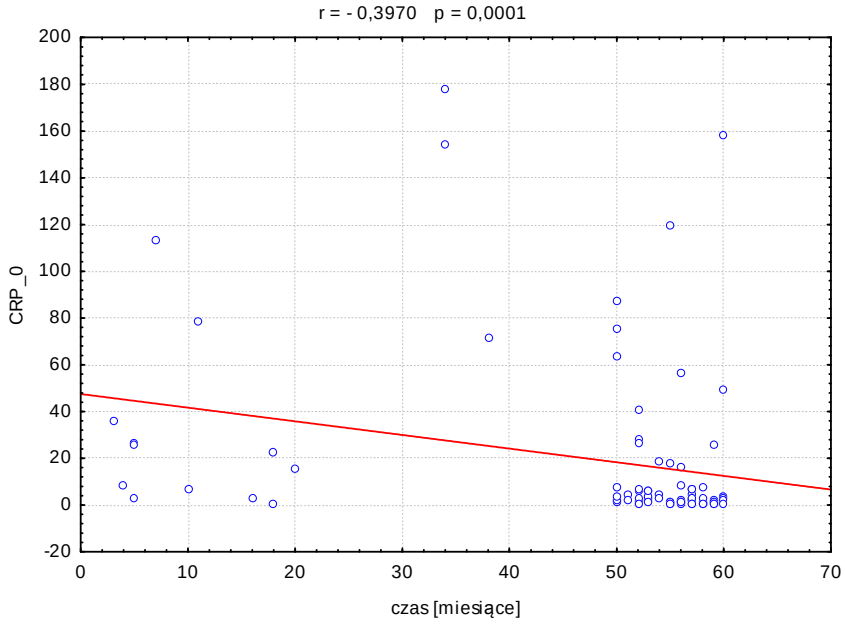
Rycina 20. Korelacja pomiędzy poziomem płytek krwi przed zabiegiem a czasem przeżycia.



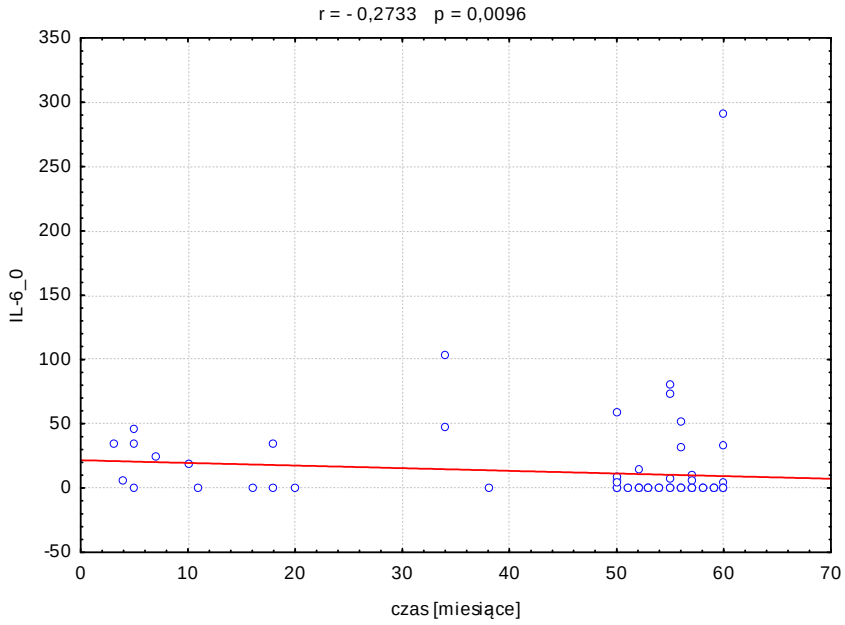
Rycina 21. Korelacja pomiędzy poziomem żelaza przed zabiegiem a czasem przeżycia.

4.5.2. Stężenia białka C-reaktywnego oraz Interleukiny 6 w odniesieniu do czasu przeżycia.

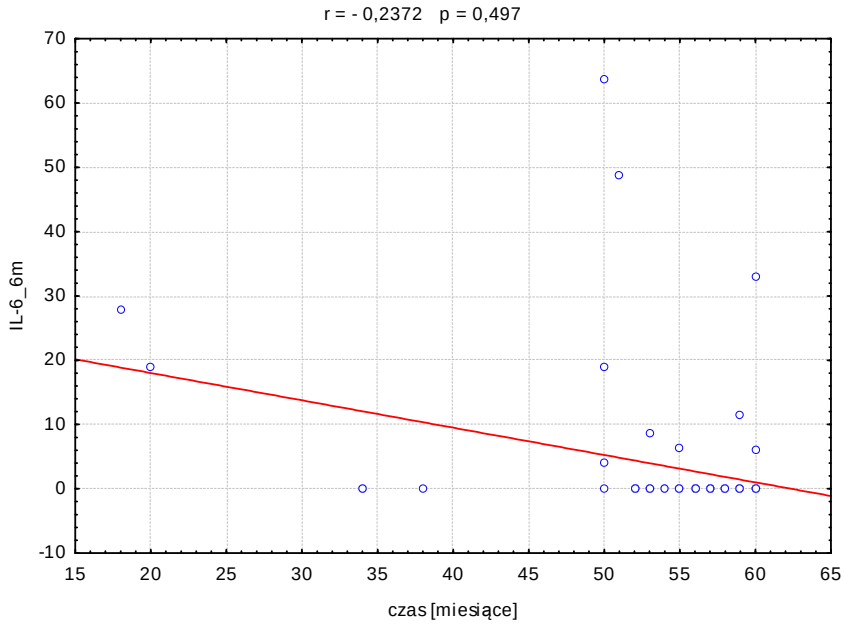
Ocenie poddano stężenia CRP oraz IL-6 przed zabiegiem, w 6-tej dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu w odniesieniu do czasu przeżycia. Wykazano statystycznie istotne zależności między stężeniem CRP oznaczonym przed zabiegiem a czasem przeżycia (p=0,0001). Wartości CRP mieściły się w granicach od 0,5 do 178. Natomiast wartości IL-6 korelowały z czasem przeżycia przy oznaczeniu przed zabiegiem p=0,0096 oraz 6 miesięcy po zabiegu p=0,049. Wartości interleukiny 6 przed zabiegiem kształtował się w granicy 0,00 a 291,87 natomiast sześć miesięcy po zabiegu usunięcia nerki w przedziale 0,00 a 63,68 **(tabela 22,23,24).** Pozostałe oznaczenia CRP oraz IL-6 nie wykazywały statystycznie istotnych korelacji.



Rycina 22. Korelacja pomiędzy wartością białka C-reaktywnego przed zabiegiem operacyjnym a czasem przeżycia.



Rycina 23. Korelacja pomiędzy poziomem Interleukiny 6 przed zabiegiem operacyjnym a czasem przeżycia.



Rycina 24. Korelacja stężenia IL-6 oznaczanej 6 miesięcy po zabiegu a czasem przeżycia pacjentów po nefrektomii.

4.6. Charakterystyka wielkości guza, stopnia złośliwości nowotworu oraz zaawansowania klinicznego nowotworu.

Analizie poddano stopień złośliwości nowotworu oceniany wg skali Fuhrmana uwzględniając podział na G1 (N=27), G2 (N=47) i G3 (N=15) w zależności od przeżycia ocenianego w miesiącach. Na **rycinie 25** ukazano

statystycznie istotne zależności między stopniem złośliwośc G2 i G3 (p=0,00005) oraz G1 i G3 (p=0,0122) w odniesieniu do czasu przeżycia. Nie stwierdzono statystycznie istotnych korelacji między stopniem złośliwości G1 i G2 a czasem przeżycia. Średnie wartości przeżycia dla poszczególnych grup wynosiły odpowiednio G1 51,4±12,0, G2 52,3±12,3 i G3 31,8±22,3 (**tabela 11**).

Oceniając stopień zaawansowania guza T z klasyfikacji TNM uwzględniono podział na T1 (N=47), T2 (N=23), T3 (N=19). Poddano analizie otrzymane średnie wartości w odniesieniu do czasu przeżycia w miesiącach. Istotną statystycznie znamienność wykazano pomiędzy stopniem zaawansowania guza T1 i T3 w odniesieniu do czasu ogólnego przeżycia (p=0,0076). Na **rycinie 26** przedstawiono otrzymane wyniki. Średnie wartości przeżycia w zależności od stopnia klinicznego zaawansowania wynosiły odpowiednio dla T1 52,8±11,5, T2 48,4±15,13 i T3 37,8±21,92 (**tabela 12**)

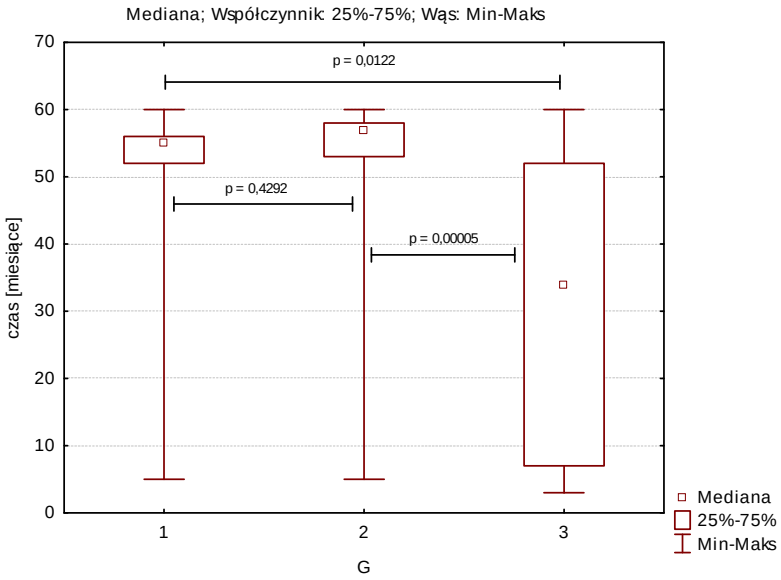
Wykazano statystycznie istotną korelację pomiędzy wielkością guza a czasem ogólnego przeżycia. Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że prawdopodobieństwo przeżycia ogólnego maleje wraz ze wzrostem wielkości guza (p=0,0402) **(tabela 27).**

Tabela 11. Czas przeżycia zależny od stopnia złośliwości G wg. Fuhrmana.

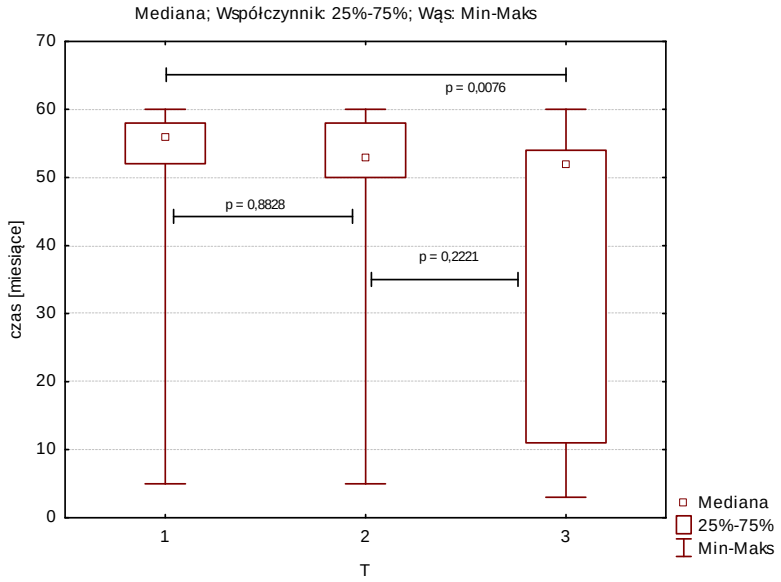
	G – 1	G – 2	G – 3	istotność p		
N	27	47	15	G 1 z 2	G 1 z 3	G 2 z 3
czas przeżycia w miesiącach	51,4±12,0; 55	52,3±12,3; 57	31,8±22,3; 34	0,4292	**0,0122**	**0,0005**

Tabela 12. Czas przeżycia zależny od stopnia T skali TNM.

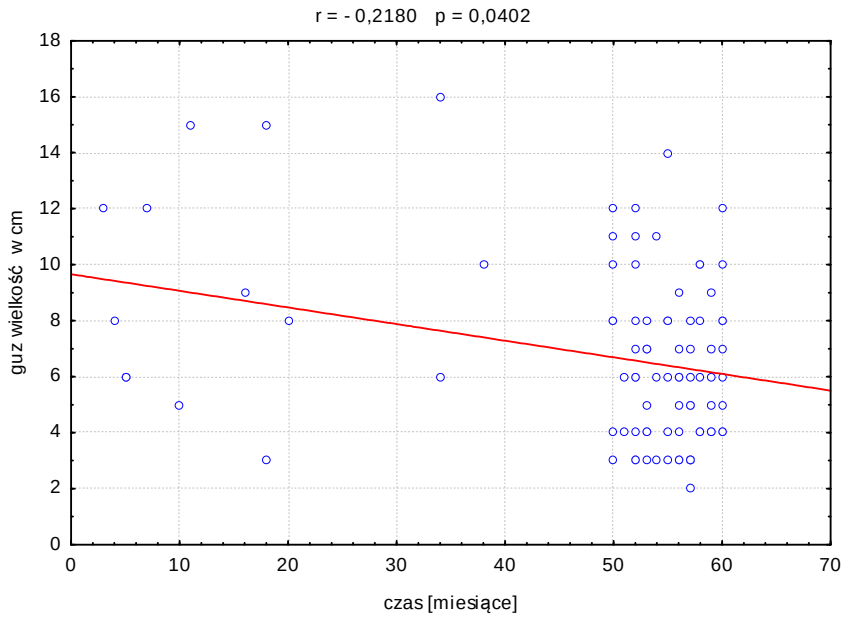
	T – 1	T – 2	T – 3	istotność p		
N	47	23	19	T 1 z 2	T 1 z 3	T 2 z 3
czas przeżycia w miesiącach	52,8±11,50; 56	48,8±15,13; 53	37,8±21,92; 52	0,8828	**0,0076**	0,2221



Rycina 25. Korelacja miedzy stopniem złośliwości G a czasem przeżycia.



Rycina 26. Korelacje między stopniem zaawansowania T a czasem przeżycia.

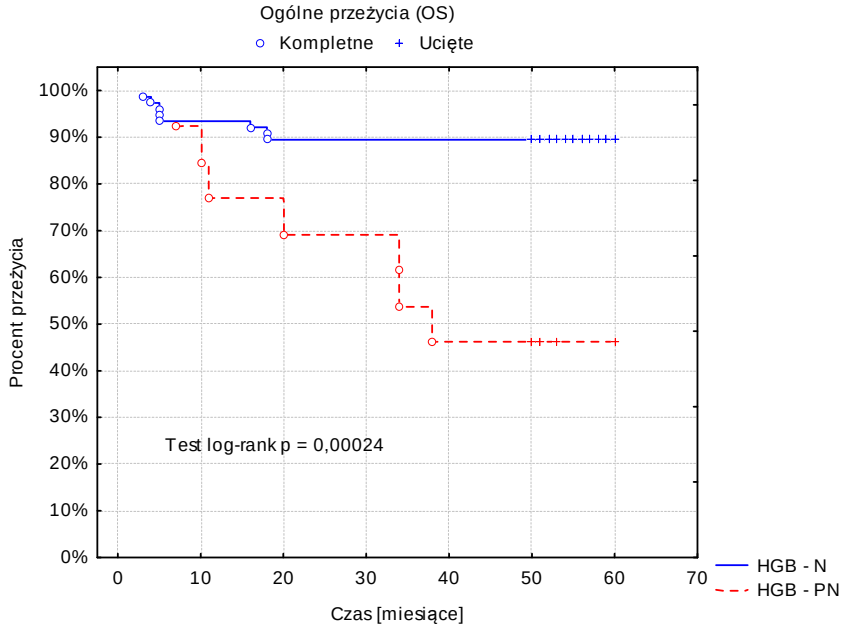


Rycina 27. Korelacja wielkości guza (w centymetrach) z czasem przeżycia.

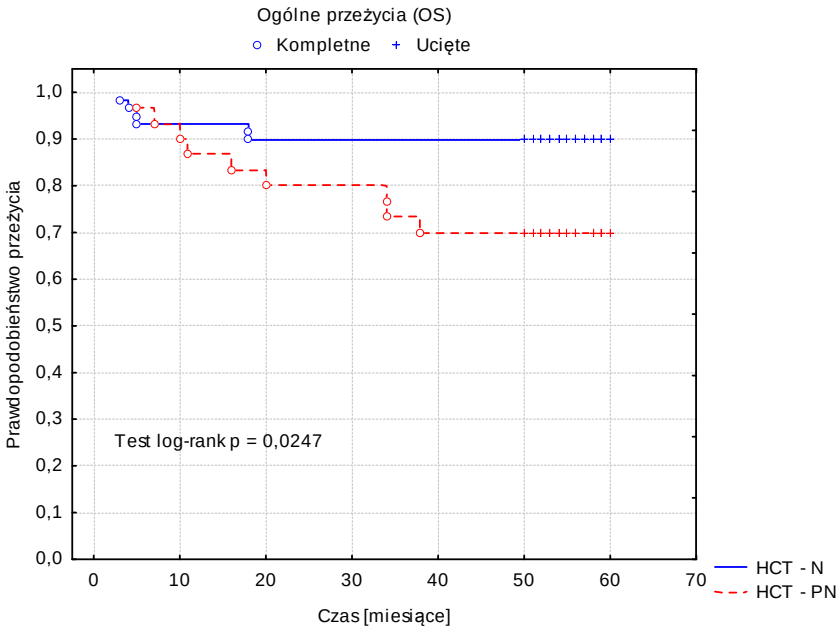
4.7. Analiza przeżycia całkowitego chorych w zależności od wartości badanych parametrów krwi przed zabiegiem operacyjnym.

W analizie porównano całkowite przeżycia chorych z rakiem jasnokomórkowym nerki w zależności od wartości kreatyniny, cholesterolu całkowitego, poziomu żelaza, dehydrogenazy mleczanowej oraz morfologii krwi obwodowej przed zabiegiem operacyjnym. Porównano czasy przeżycia chorych, których wyniki mieściły się w zakresie wartości referencyjnych (N) i poza normą (PN). Po wstępnej analizie rozpatrywano podwyższone poziomy LDH, cholesterolu, kreatyniny, płytek krwi, ilości leukocytów oraz obniżone wartości: hemoglobiny, hematokrytu, żelaza i ilości erytrocytów. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic przeżyć całkowitych w zależności od przedoperacyjnych wartości parametrów laboratoryjnych w zakresie ilości leukocytów, erytrocytów, dehydrogenazy mleczanowej, cholesterolu, kreatyniny i płytek krwi. Istotne statystycznie korelacje stwierdzono przy ocenie przeżycia w zależności od początkowych wartości hemoglobiny. Chorzy, których wartości hemoglobiny mieściły się w granicy normy mieli dłuższy okres przeżycia niż pacjenci z obniżonym wyjściowo poziomem hemoglobiny (test log-rank p= 0,00024). Oceniając parametry hematokrytu stwierdzono dłuższy czas przeżycia w grupie pacjentów z wyjściowo prawidłowymi wartościami

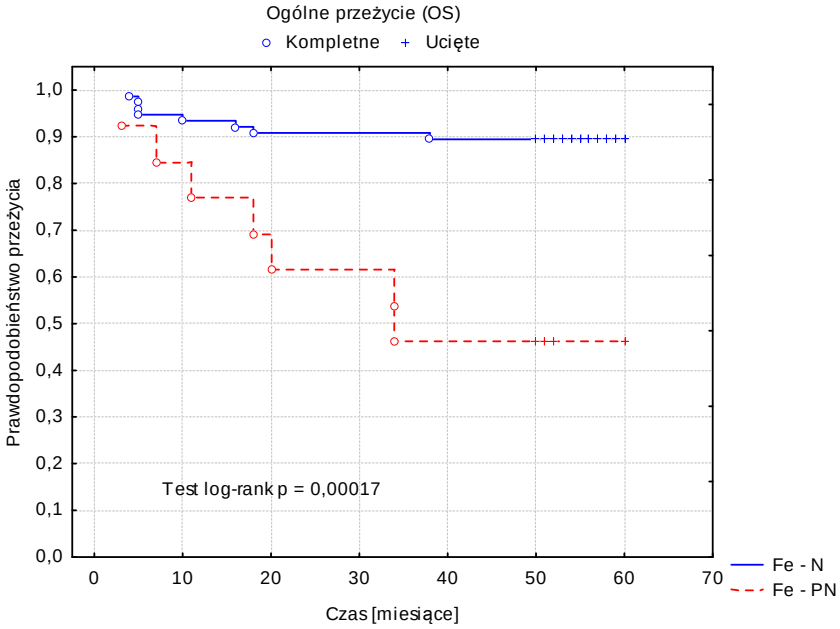
hematokrytu, w porównaniu z grupą chorych, u których przed zabiegiem stwierdzono obniżoną wartość tego parametru (test log-rank p=0,0247). Podobne obserwacje dotyczyły poziomu żelaza. Stwierdzono dłuższe przeżycie całkowite u chorych, u których przed zabiegiem stwierdzono prawidłowe poziomy żelaza w porównaniu z grupą pacjentów z początkowo obniżona wartością tego parametru (test log-rank p=0,00017)(**rycina 28,29,30**).



Rycina 27. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości hemoglobiny przed zabiegiem.



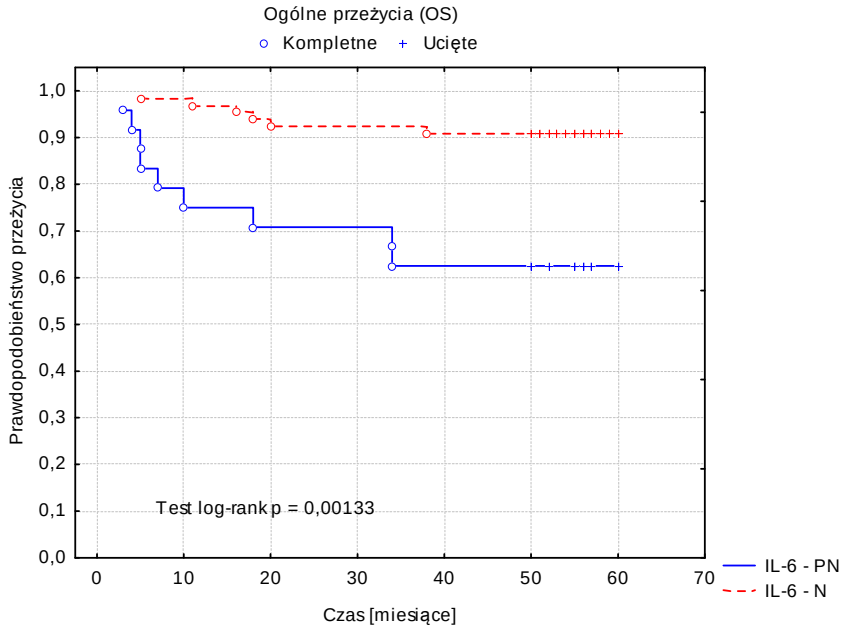
Rycina 29. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości hematokrytu przed zabiegiem.



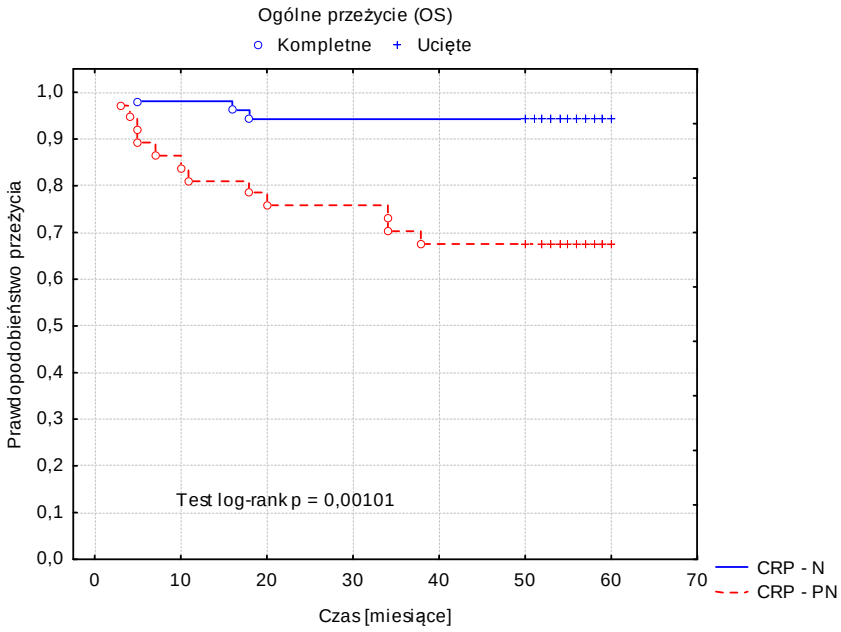
Rycina 30. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości żelaza przed zabiegiem.

4.8. Analiza całkowitego przeżycia chorych w zależności od początkowych wartości CRP i IL-6

Analizie poddano otrzymane wartości IL-6 i CRP uzyskane przed zabiegiem z podziałem na stężenie w normie (N) i poza normą (PN). W grupie chorych z jasnokomórkowym rakiem nerki stwierdzono dłuższy okres całkowitego przeżycia chorych, u których stężenie CRP przed rozpoczęciem leczenia mieścił się w granicach normy w porównaniu z grupą, u których stwierdzono podwyższone wartości CRP (test log-rank p=0,00101). Dłuższy czas przeżycia stwierdzono u chorych, u których poziom interleukiny-6 przed zabiegiem miał wartość prawidłową w porównaniu z grupą z wyjściowo podwyższonym poziomem IL-6 (test log-rank p= 0,00133) (**rycina 31, 32**).



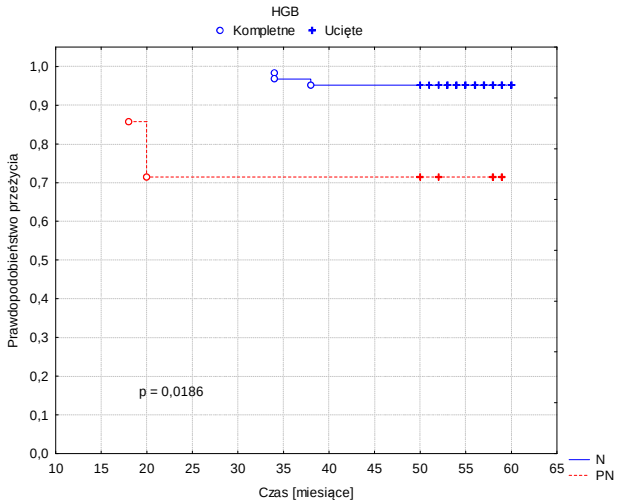
Rycina 31. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości interleukiny 6.



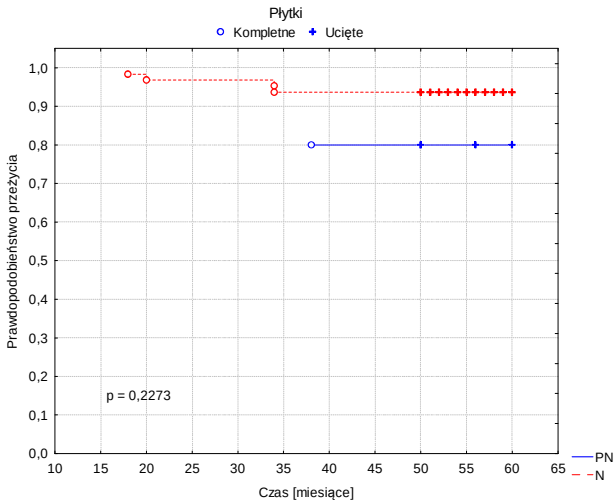
Rycina 32. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości białka C-reaktywnego.

4.9. Analiza przeżycia całkowitego w zależności od wartości parametrów biochemicznych krwi w 6 miesięcy po operacji.

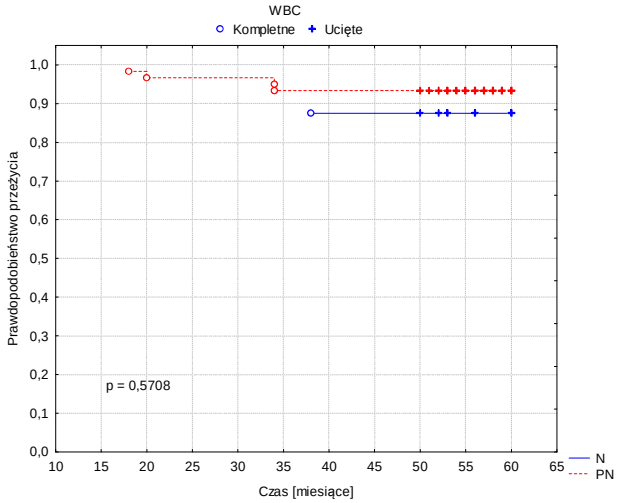
W analizie porównano całkowite przeżycia chorych z rakiem jasnokomórkowym nerki w zależności od wartości kreatyniny, cholesterolu całkowitego, poziomu żelaza, dehydrogenazy mleczanowej oraz morfologii krwi obwodowej 6 miesięcy po zabiegu nefrektomii. Porównano czasy przeżycia chorych, których wartości mieściły się w zakresie wartości referencyjnych (N) i poza zakresem (PN). Nie wykazano statystycznie istotnych różnic przeżycia całkowitego w zależności od wartości parametrów laboratoryjnych w 6 miesięcy po zabiegu (**rycina 33 A do H**).



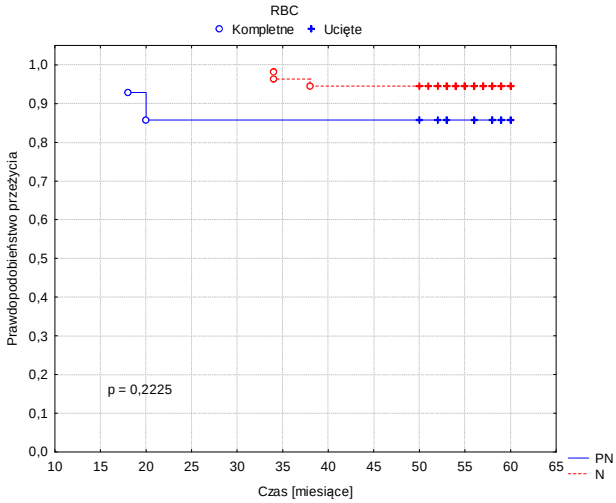
Ryc. 33(A).



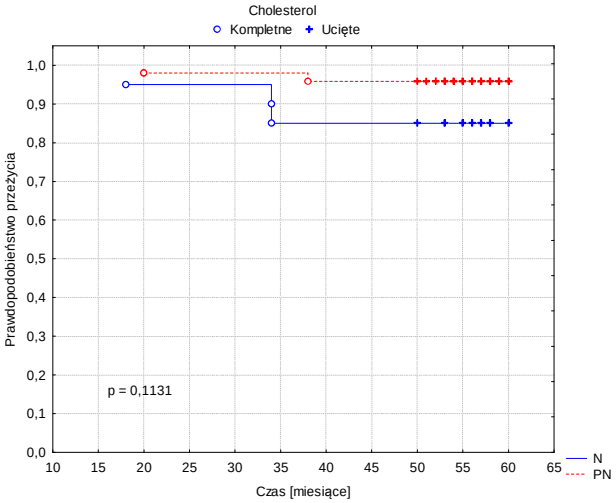
Ryc. 33(B).



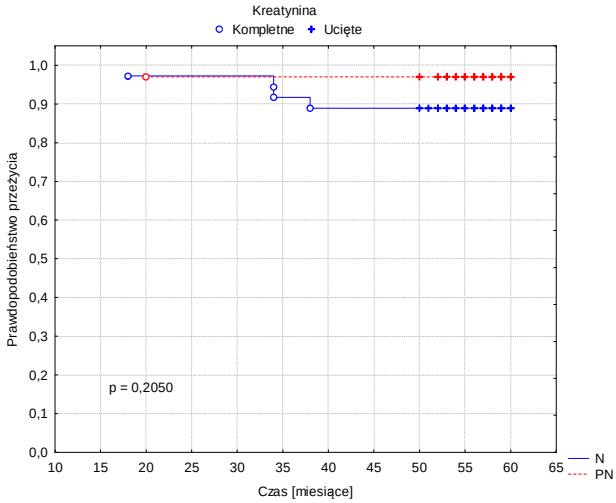
Ryc. 33(C).



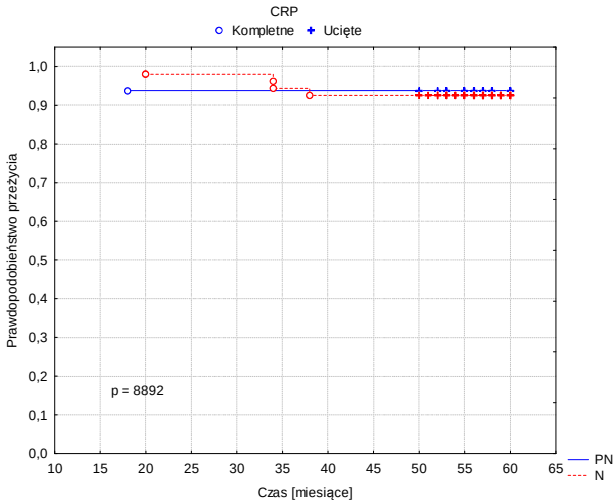
Ryc. 33(D).

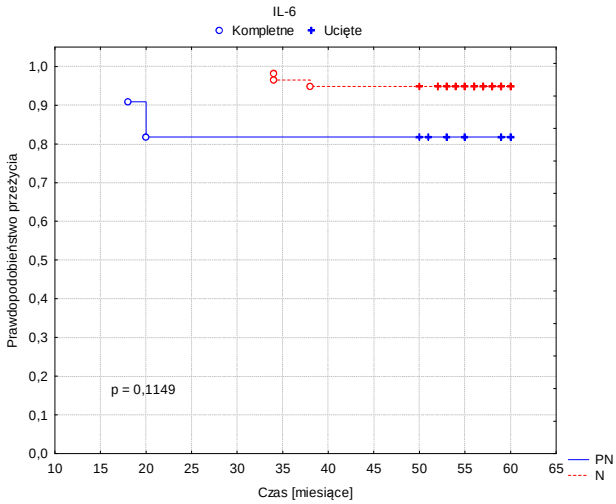


Ryc. 33(E).



Ryc. 33(F).



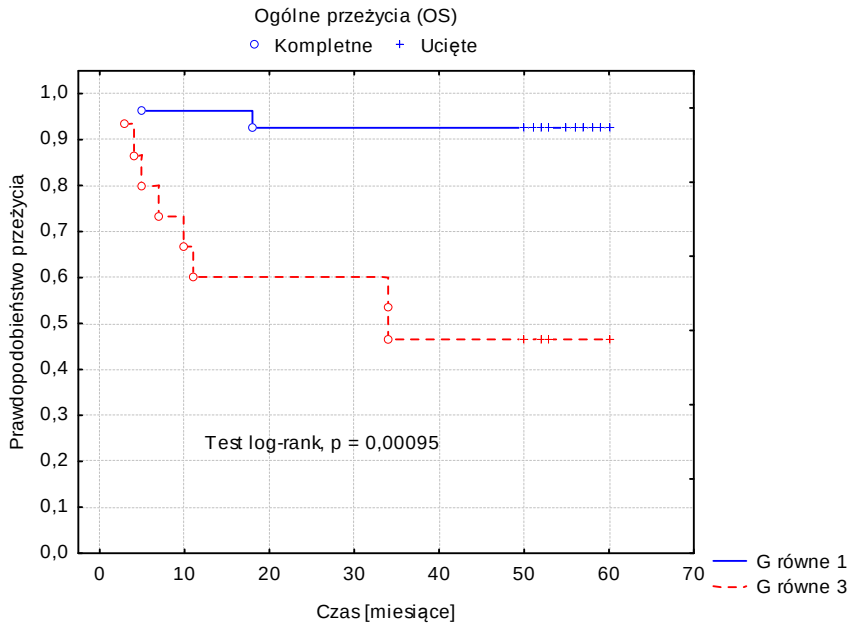


Ryc. 33(G). **Ryc. 33(H).**

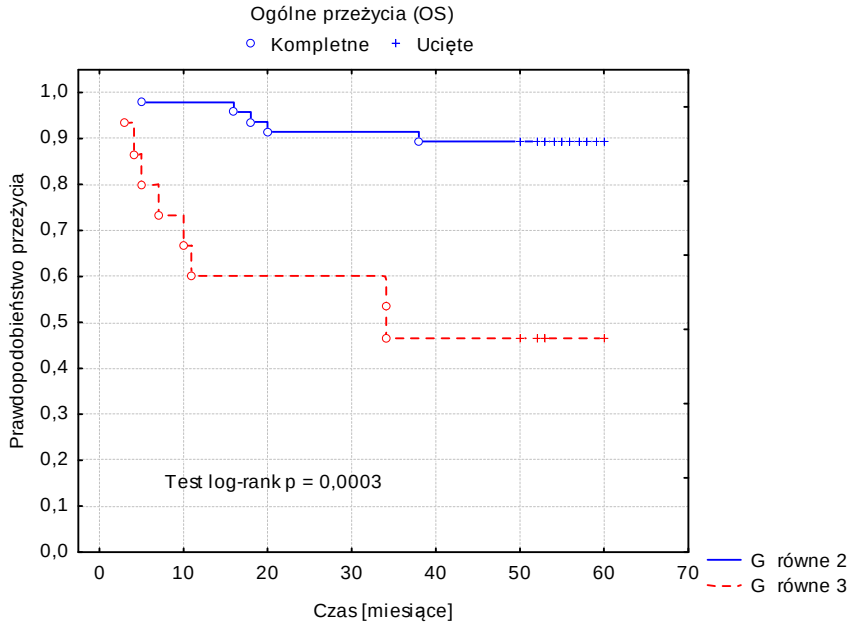
Rycina 33(A do H). Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy czasem przeżycia (miesiące) a prawdopodobieństwem przeżycia w odniesieniu do badanych parametrów. A – hemoglobina, B – płytki krwi, C – krwinki białe, D – krwinki czerwone, E – Cholesterol, F – Kreatynina, G – CRP, H – IL6.

4.10. Analiza ogólnego przeżycia w zależności od stopnia złośliwości guza i zaawansowania klinicznego.

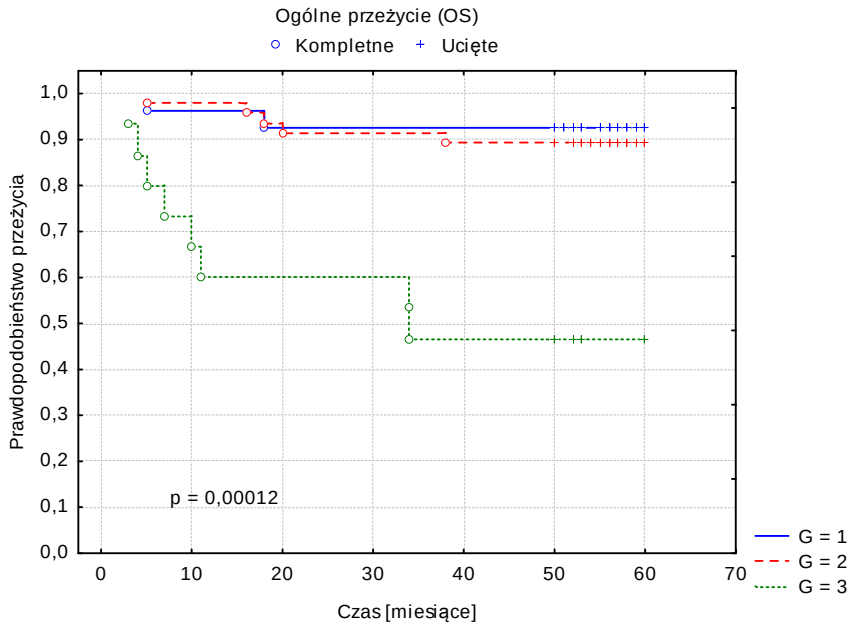
W analizie porównano przeżycie całkowite chorych z rakiem nerki w zależności od stopnia złośliwości guza wg. Fuhrmana oraz klasyfikacji TNM. W analizie przeprowadzonej na podstawie moich badań zostali uwzględnieni tylko pacjenci z miejscowo-zaawansowanym guzem, bez przerzutów do węzłów chłonnych i bez przerzutów odległych w momencie kwalifikacji do leczenia zabiegowego. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono statystycznie istotną korelację pomiędzy stopniem złośliwości komórkowej G1 i G3 przy istotności statystycznej p=0,00095 oraz między stopniem złośliwości G2 i G3 przy istotności p=0,0003 (**Rycina 34A i B**). Wykazano również statystycznie istotną korelację między wszystkimi stopniami złośliwości nowotworu (p=0,0012) (**Rycina 34C**).



Rycina 34A. Analiza Kaplana-Meiera czasu przeżycia w zależności od stopnia złośliwości komórkowej według .Fuhrmana.

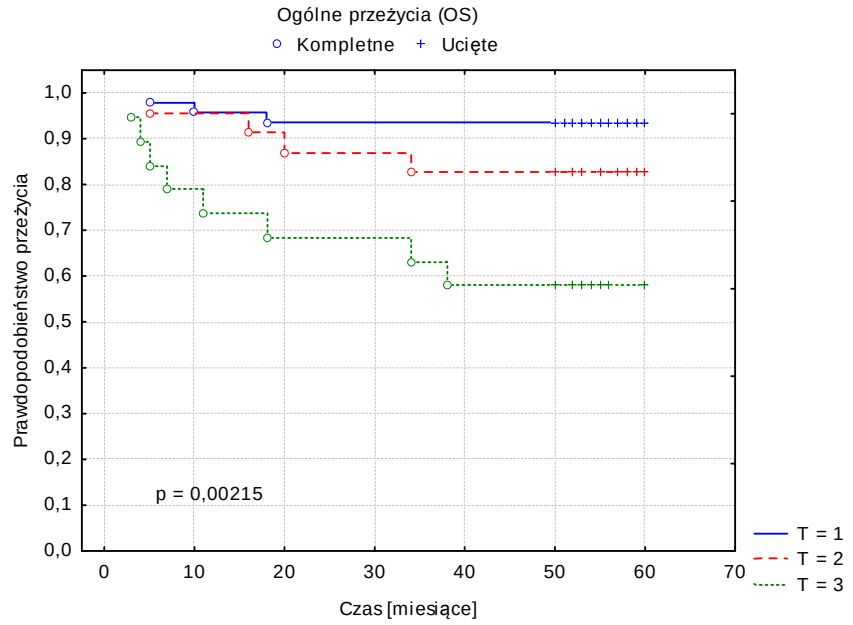


Rycina 34B. Analiza Kaplana-Meiera czasu przeżycia w zależności od stopnia złośliwości komórkowej według Fuhrmana.



Rycina 34C. Analiza Kaplana-Meiera czasu przeżycia w zależności od stopnia złośliwości komórkowej według Fuhrmana.

Oceniając przeżycia całkowite w stosunku do stopnia zaawansowania klinicznego nowotworu wykazano znamienne statystycznie różnice przeżycia pomiędzy pacjentami ze stopniem T1 a T3 oraz T2 a T3. Istotność statystyczna wynosiła odpowiednio p = 0,00047 oraz p = 0,00215(**Rycina 35**).

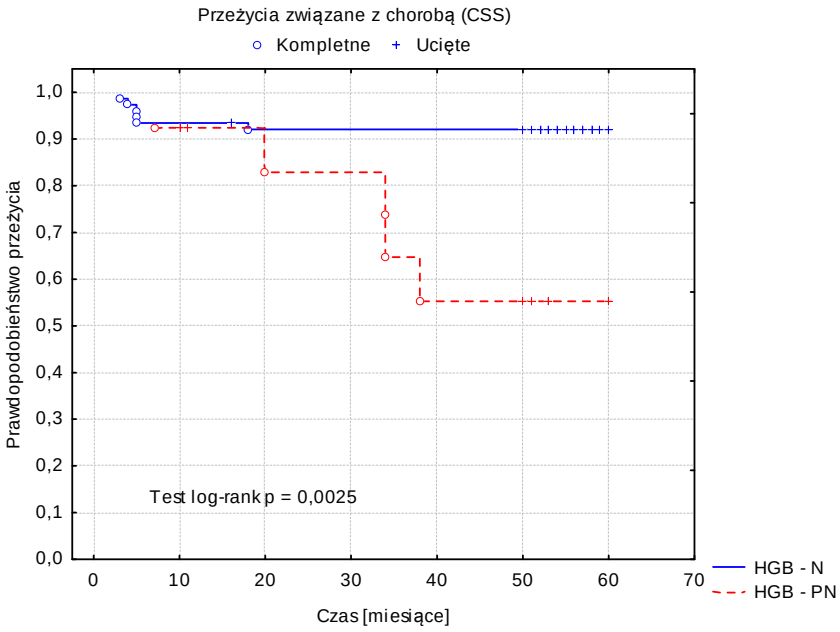


Rycina 35. Analiza Kaplana-Meiera czasu przeżycia w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego T.

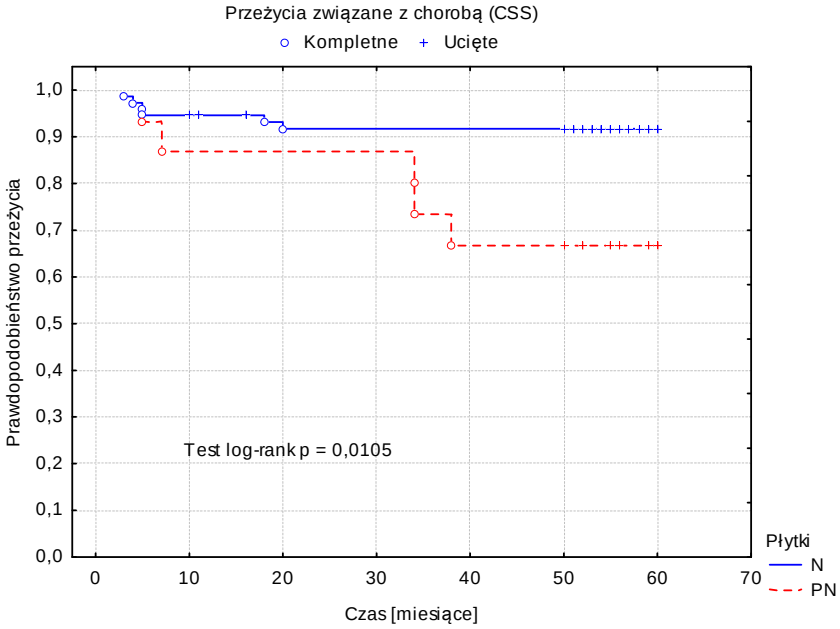
4.11. Przeżycia związane z rakiem nerki w badaniach biochemicznych.

Dokonano także porównania przeżycia chorych związanych z rakiem nerki (cancer specific survivale – CSS). wzięto pod uwagę tylko zgony spowodowane przez nowotwór z wykluczeniem chorych, którzy zmarli z innego powodu. W analizie oceniano przeżycia pacjentów z rakiem jasnokomórkowym nerki w zależności od wartości kreatyniny, cholesterolu całkowitego, poziomu żelaza, dehydrogenazy mleczanowej oraz morfologii krwi obwodowej przed operacją. Pod uwagę wzięto wartości mieszczące się w zakresie wartości referencyjnych (N) oraz poza normą (PN). Po wstępnej analizie wykazano podwyższone wartości kreatyniny, cholesterolu, dehydrogenazy mleczanowej, hematokrytu, płytek krwi i liczby leukocytów oraz niższą w stosunku do normy wartość hemoglobiny, żelaza i erytrocytów.

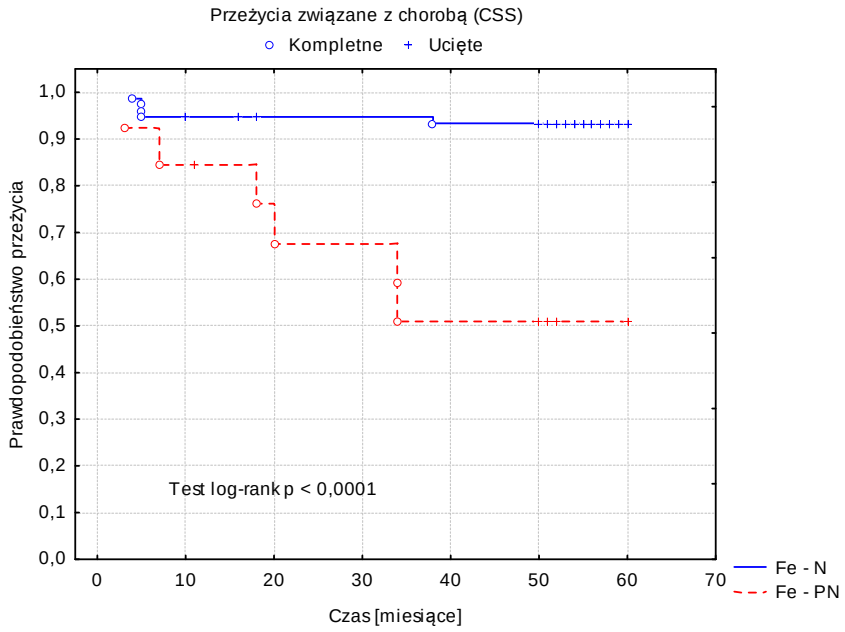
Istotnie dłuższy czas przeżycia specyficzny dla raka nerki stwierdzono u pacjentów, u których poziom hemoglobiny przed zabiegiem mieścił się w granicach normy w porównaniu z chorymi, u których stwierdzono obniżony poziom hemoglobiny (test log-rank p=0,0025) (**rycina 36**). Istotne statystycznie różnice stwierdzono również przy ocenie czasu przeżycia specyficznego dla guza w zależności od poziomu płytek krwi. Chorzy, których wartości płytek mieściły się w granicach normy uzyskali istotnie dłuższy czas przeżycia niż chorzy z wartościami podwyższonymi (test log-rank p= 0,0105) (**rycina 37**). Istotne statystycznie zależności uzyskano również badając wartości żelaza przed zabiegiem nefrektomii. Obserwowano istotnie statystycznie dłuższy czas przeżycia specyficzny dla guza u pacjentów, u których przed zabiegiem poziom żelaza był w normie w stosunku do pacjentów z obniżonymi wartościami żelaza (test log-rank p<0,0001) (**rycina 38**). Analiza wpływu dehydrogenazy mleczanowej, kreatyniny, leukocytów oraz cholesterolu całkowitego na czas przeżycia związany z rakiem nerki, w zależności od wartości uzyskanych przed operacją nie wykazała istotnych statystycznie zależności.



Rycina 36. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami hemoglobiny.



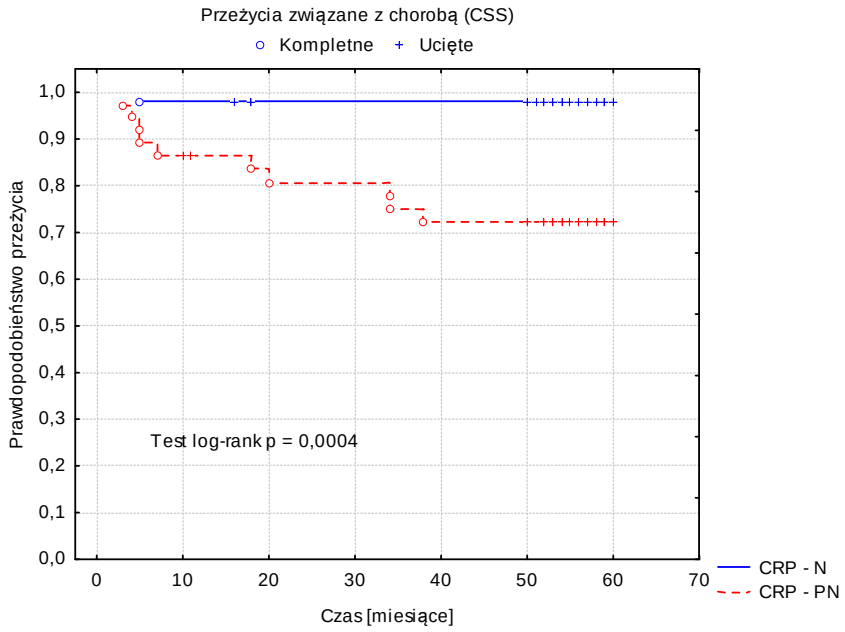
Rycina 37. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami płytek krwi obwodowe.



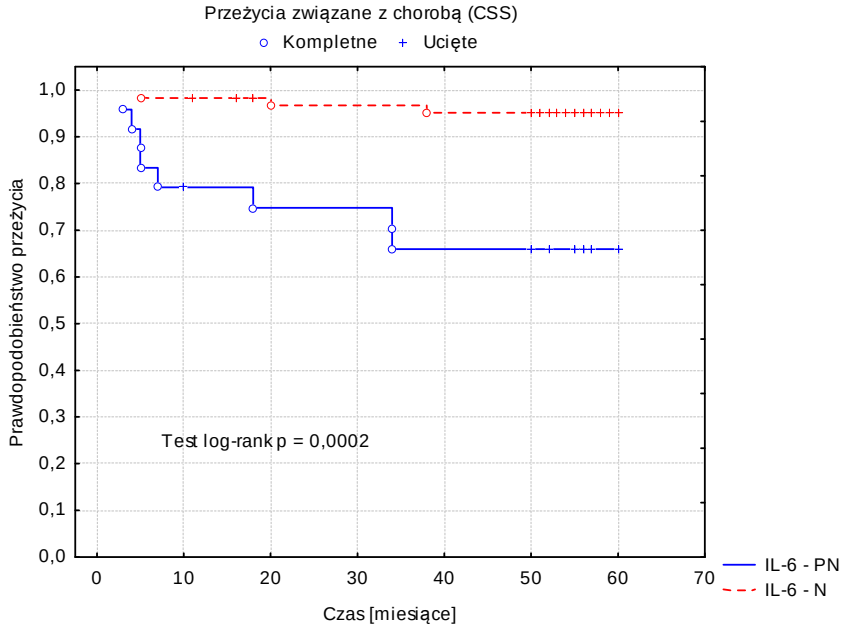
Rycina 38. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami żelaza.

4.12. Przeżycia związane z rakiem nerki a stężeniem interleukiny 6 i białka C-reaktywnego przed zabiegiem.

Dokonano porównania przeżycia chorych związanych z rakiem nerki. wzięto pod uwagę tylko zgony spowodowane przez nowotwór z wykluczeniem chorych, którzy zmarli z innego powodu. W analizie oceniano przeżycia pacjentów z rakiem jasnokomórkowym nerki w zależności od wartości białka C-reaktywnego i interleukiny-6. Wartości podzielono na grupę poza zakresem normy (PN) i w normie (N). Istotne statystycznie korelacje stwierdzono w odniesieniu do białka C-reaktywnego. Stwierdzono dłuższy okres przeżycia u pacjentów, u których wartości CRP przed zabiegiem mieściły się w granicach normy w porównaniu z chorymi z podwyższonym wyjściowo poziomem tego białka (test log-rank p =0,0004) (**rycina 39**). Dłuższy czas przeżycia związany z guzem stwierdzono również u pacjentów z początkowymi wartościami interleukiny 6 mieszczącymi się w normie w porównaniu z chorymi z wartością IL-6 powyżej normy (**rycina 40**).



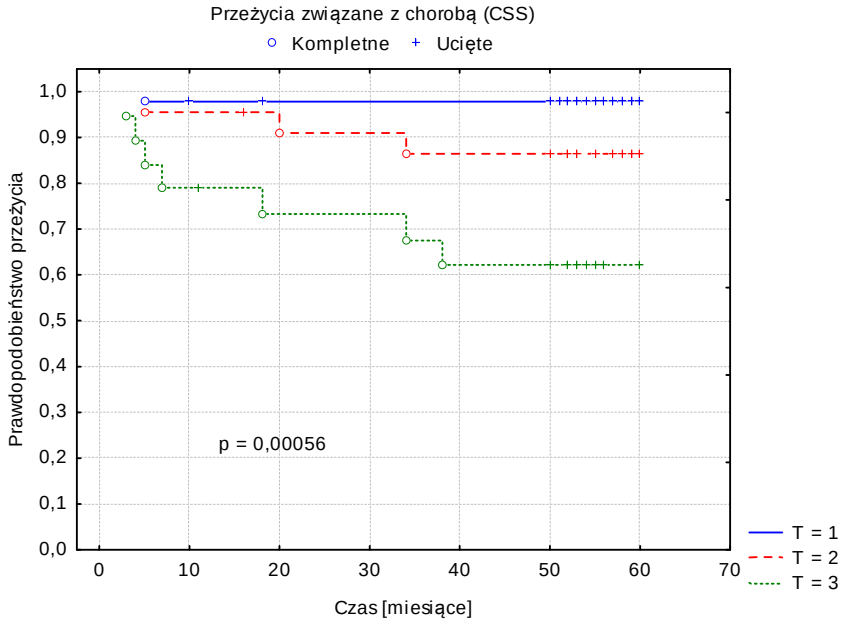
Rycina 39. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami CRP.



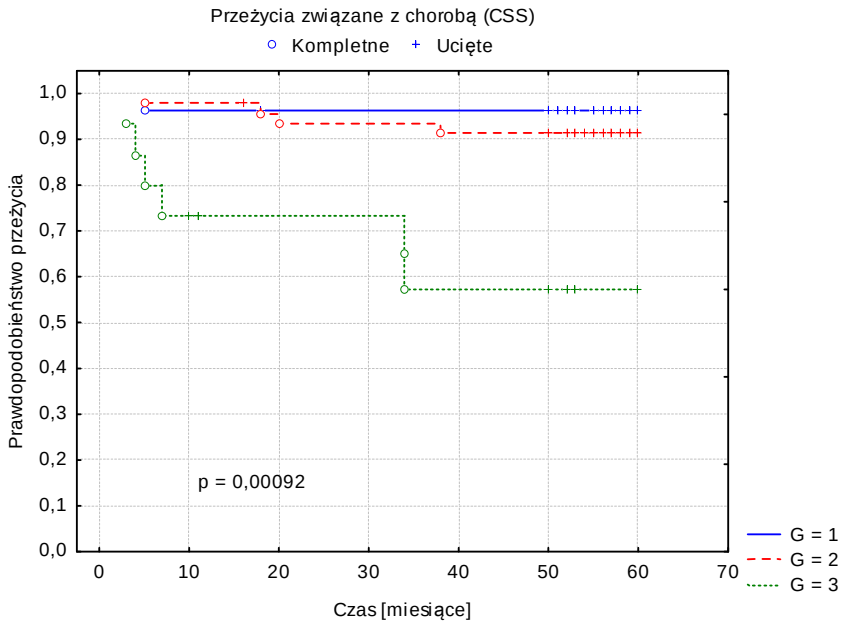
Rycina 40. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami IL-6.

4.13. Przeżycia związane z rakiem nerki a stopniem zaawansowania klinicznego oraz stopniem złośliwości komórkowej.

Analizie poddano wartości stopnia zaawansowania guza T z podziałem na T1, T2 i T3 oraz złośliwością guza G z podziałem na G1, G2 i G3 a prawdopodobieństwem przeżycia związanym z guzem nerki. Na podstawie otrzymanych wyników wykazano, że im bardziej zaawansowany rak nerki tym mniejsze prawdopodobieństwo przeżycia przy poziomie istotności statystycznej p=0,00056 (**rycina 41**) oraz im wyższy stopień złośliwości guza tym mniejsze prawdopodobieństwo przeżycia związanego z rakiem nerki przy p=0,00092 (**rycina 42**).



Rycina 41. Analiza stopnia zaawansowania guza T a prawdopodobieństwem przeżycia związanym z rakiem nerki.



Rycina 42. Analiza stopnia złośliwości komórkowej guza G a prawdopodobieństwem przeżycia związanym z rakiem nerki.

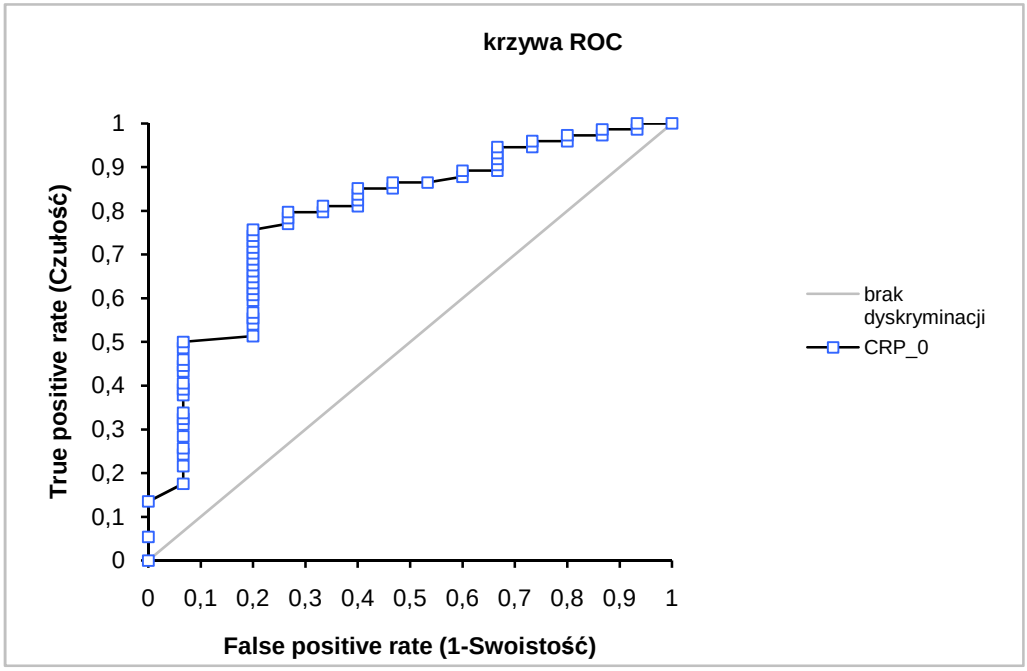
4.14. Analiza wartości diagnostycznych badanych parametrów.

Dokładność diagnostyczną badań laboratoryjnych oceniano na podstawie pomiaru pola pod krzywą (AUC). Przyjmuje się, że pole powierzchni pod krzywą ROC równe wartości 0,5 nie ma zdolności różnicowania grup, natomiast wartości bliskie 1 oznaczają wysoką dokładność diagnostyczną. Analizie poddano wartość diagnostyczną parametrów morfologii krwi obwodowej, kreatyniny, cholesterolu całkowitego, poziomu żelaza oraz dehydrogenazy mleczanowej. Badanie przeprowadzono dobę przed zabiegiem usunięcia nowotworowo zmienionej nerki, 6 dni po operacji i 6 miesięcy po operacji.

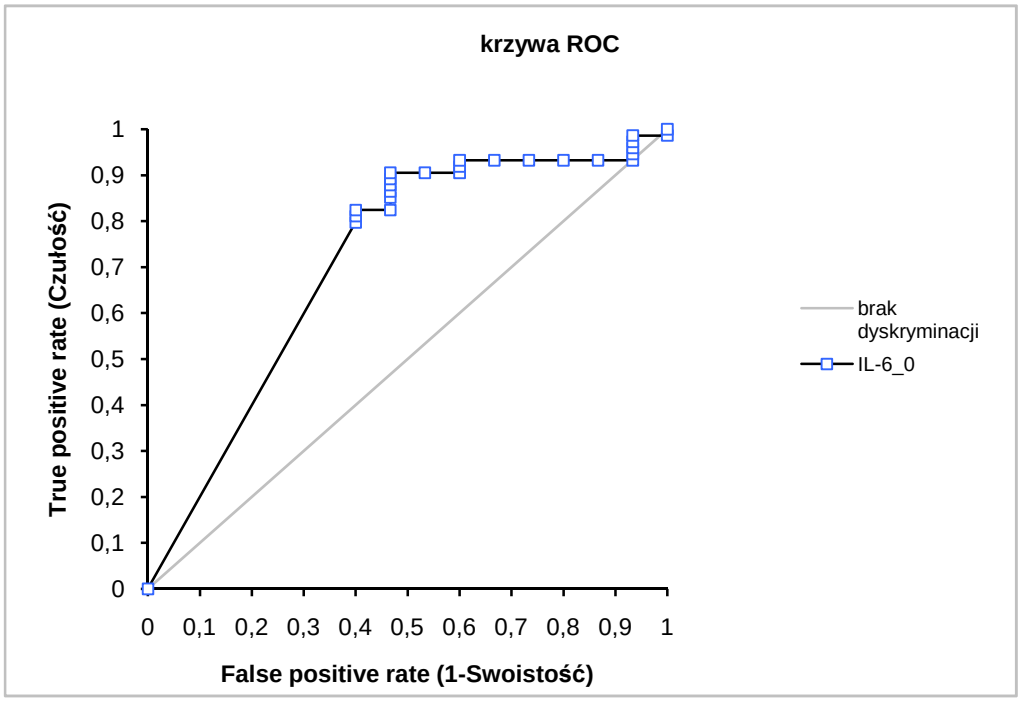
4.14.1. Analiza wartości diagnostycznych badanych parametrów wykonanych u chorych przed zabiegiem.

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badania laboratoryjne: leukocyty, płytki krwi, dehydrogenazy mleczanowej, cholesterol, kreatynina nie mają zdolności wyodrębniania chorych, którzy rokują lepiej lub gorzej – AUC bliskie 0,5. Najwyższą wartość prognostyczną stwierdzono w

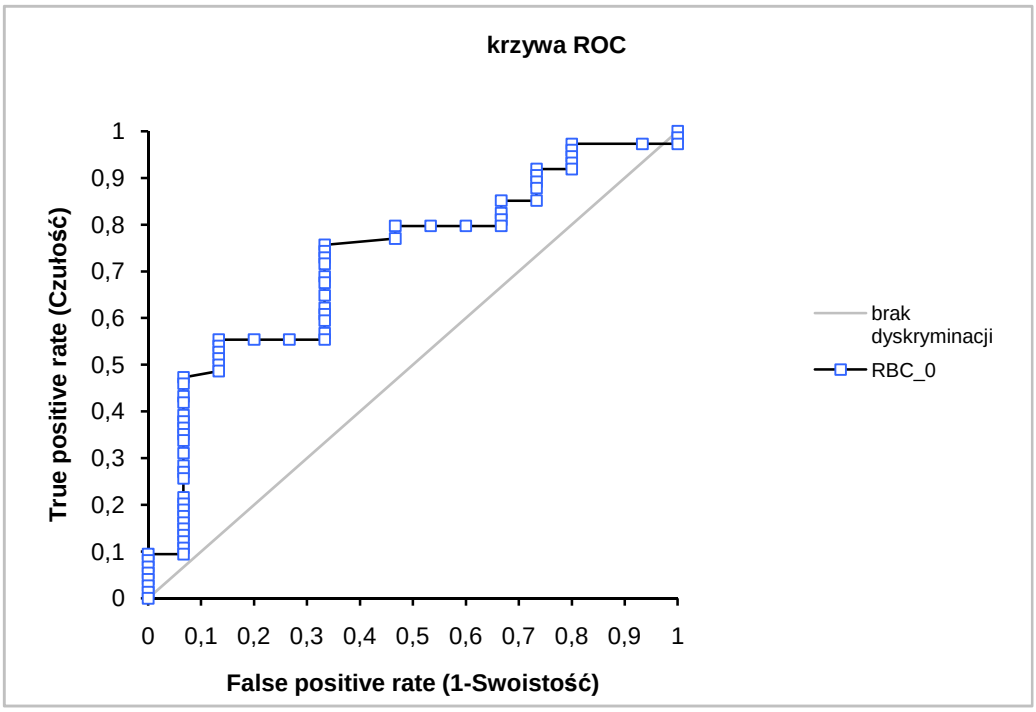
przypadku CRP (AUC-0,79), żelaza i hematokrytu (AUC- 0,75) oraz hemoglobiny i erytrocytów (AUC-0,72), IL-6 (AUC-0,71). (**rycina 43 do 47**).



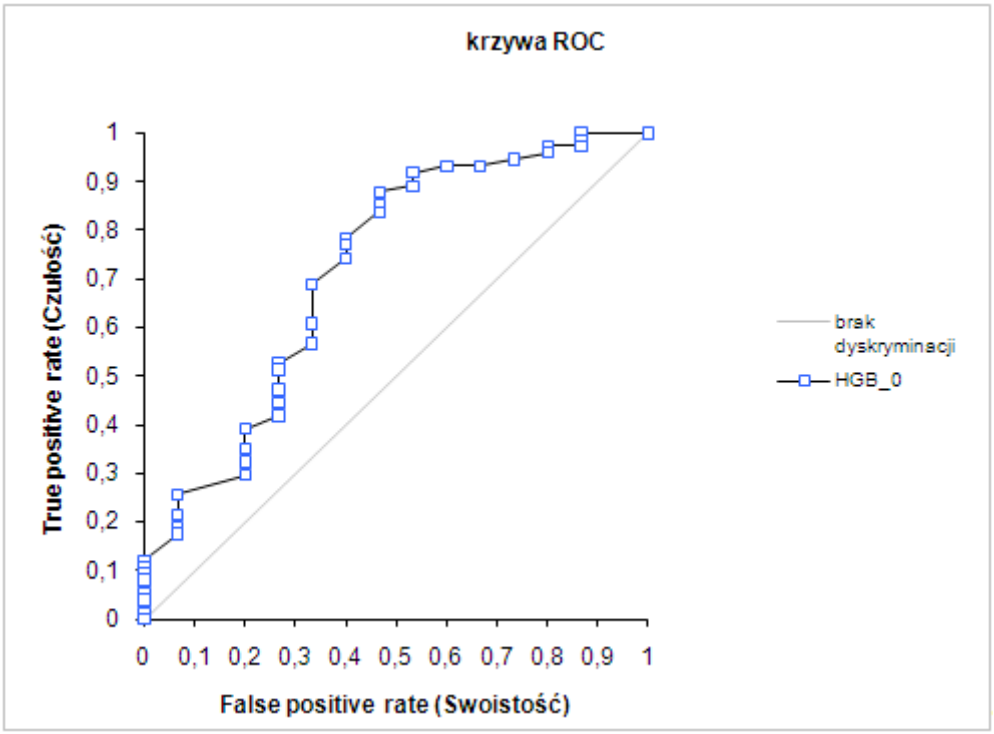
Rycina 43. Krzywa ROC w odniesieniu do CRP przed zabiegiem.



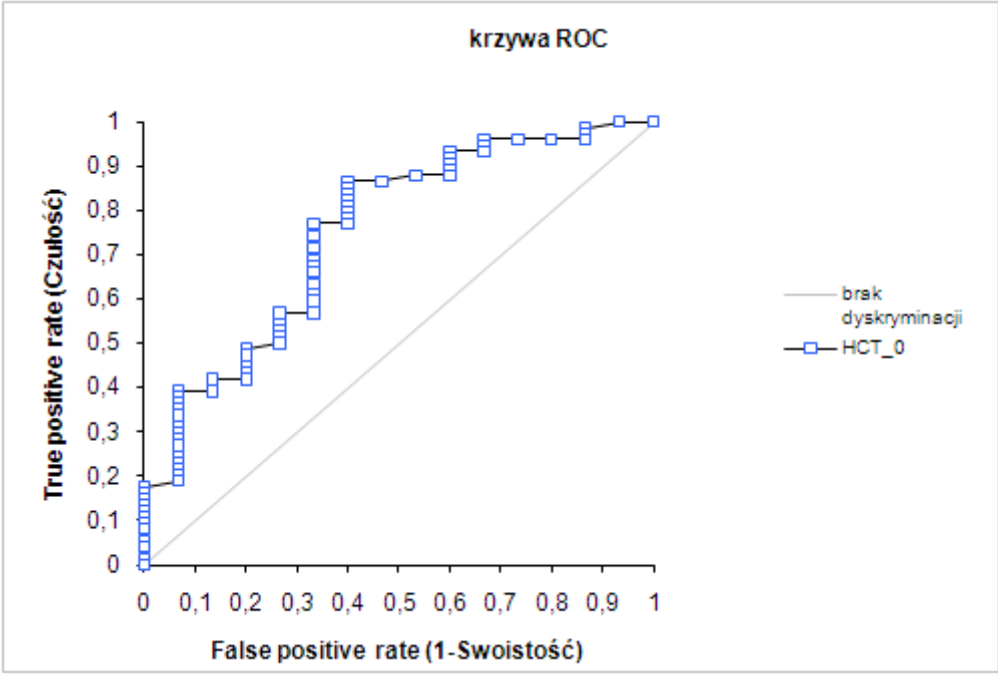
Rycina 44. Krzywa ROC w odniesieniu do IL-6 przed zabiegiem.



Rycina 45. Krzywa ROC w odniesieniu do erytrocytów (RBC) przed zabiegiem.



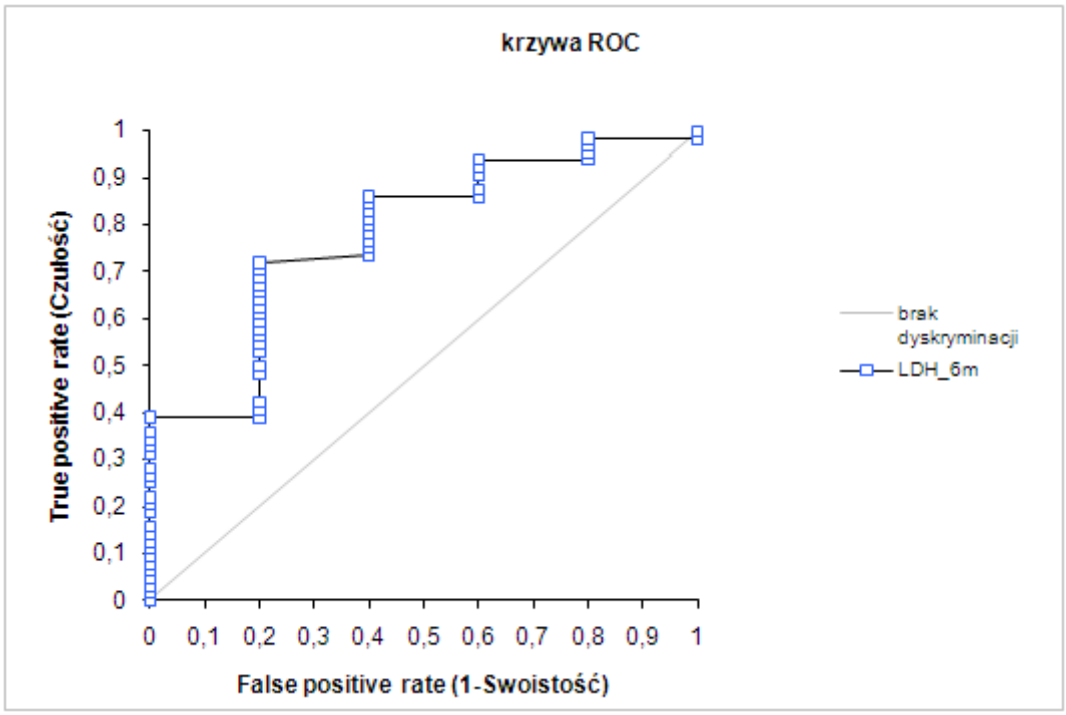
Rycina 46. Krzywa ROC w odniesieniu do hemoglobiny (HGB) przed zabiegiem.



Rycina 47. Krzywa ROC w odniesieniu do hematokrytu (HCT) przed zabiegiem.

4.14.2. Analiza wartości diagnostycznych badanych parametrów u chorych 6 miesięcy po zabiegu nefrektomii.

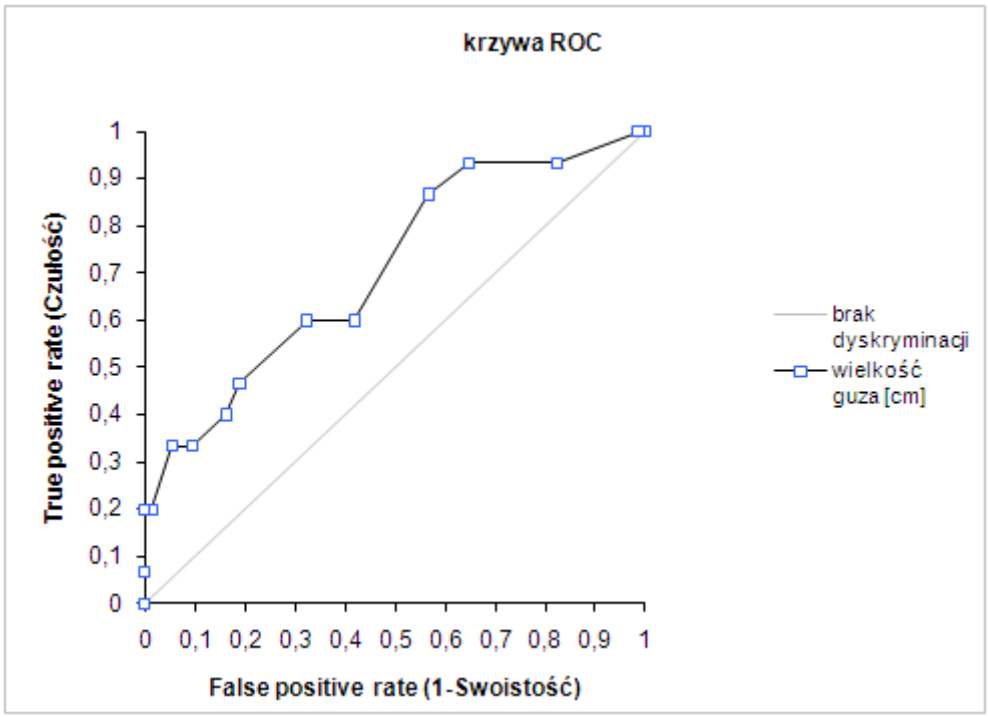
Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badania laboratoryjne: erytrocyty, leukocyty, hemoglobiny, hematokrytu, płytki krwi, cholesterol, kreatynina, żelaza, CRP, IL-6 w badaniu pół roku po zabiegu nefrektomii z powodu raka nerki nie mają wartości prognostycznych. Jedynie poziom LDH wykazywał wartość diagnostyczną AUC - 0,78 (**rycina 48**).



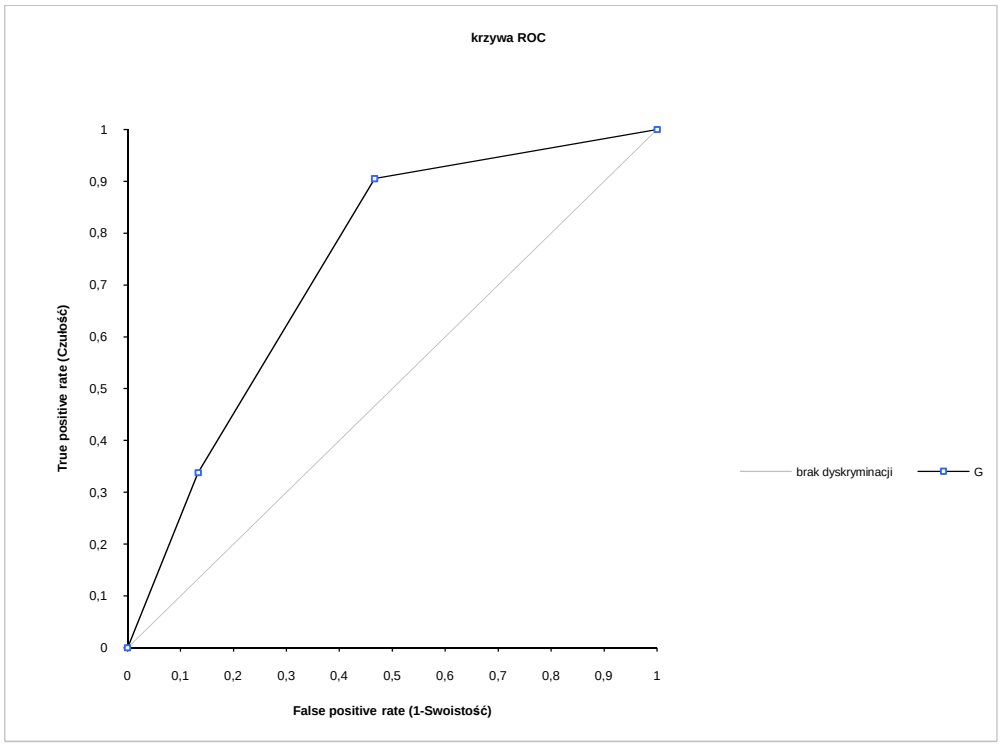
Rycina 48. Krzywa ROC dla dehydrogenazy mleczanowej (LDH) u chorych 6 miesięcy po zabiegu operacyjnym.

4.15. Analiza stopnia zaawansowania, stopnia złośliwości oraz wielkości guza u chorych z rakiem nerki.

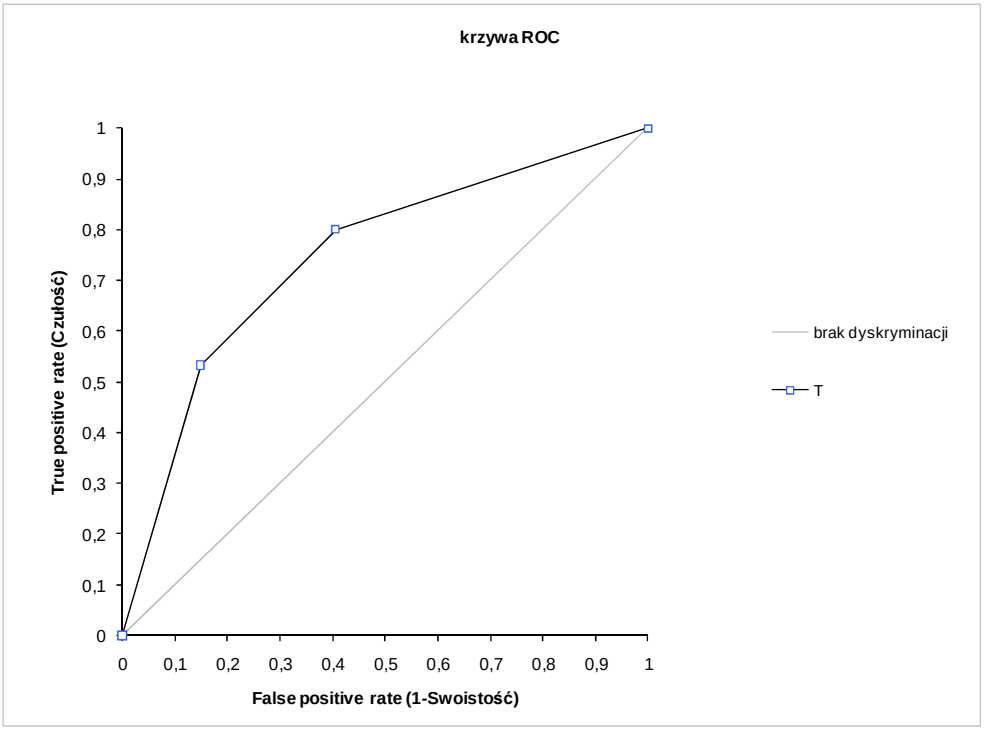
Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że badane parametry mają wartość diagnostyczną. Najwyższą dokładność diagnostyczną stwierdzono w przypadku stopnia zaawansowania klinicznego T (AUC 0,75), G (AUC 0,74) i wielkości guza wyrażonej w centymetrach AUC 0,71 (**rycina 49 do 51**). Proponowany w analizie punkt odcięcia dla wielkości guza wynosi 8 cm. Czułość dla tej wartości wynosi 0,60, a swoistość 0,676. Proponowany w analizie punkt odcięcia dla stopnia złośliwości komórkowej G wynosi 3. Czułość dla tej wartości wynosi 0,533, a swoistość 0,905. Proponowany w analizie punkt odcięcia dla stopnia zaawansowania klinicznego T wynosi 3. Czułość dla tej wartości wynosi 0,533, a swoistość 0,851.



Rycina 49. Krzywa ROC w zależności od wielkości guza.



Rycina 50. Krzywa ROC w zależności od stopnia złośliwości komórkowej (G) według Fuhrmana.



Rycina 51. Krzywa ROC w zależności od zaawansowania stopnia klinicznego T.

4.16. Ocena korelacji pomiędzy CRP i IL-6 a wskaźnikami laboratoryjnymi.

Analizie poddano korelacje wartości CRP i IL-6 otrzymane przed zabiegiem ze wskaźnikami laboratoryjnymi (hemoglobiną, erytrocytami, leukocytami, hematokrytem, żelazem, dehydrogenazą mleczanową, cholesterolem i kreatyniną) oznaczonymi przed zabiegiem oraz 6 miesięcy po zabiegu. Otrzymane wyniki nie wykazały statystycznie istotnej korelacji w żadnym z oznaczeń.

5. DYSKUSJA

Jasnokomórkowy rak nerki wywodzący się z nabłonka kanalików nerkowych należy do heterogennych złożonych guzów i stanowi ponad 90% pierwotnych nowotworów nerek u osób dorosłych. Jego charakter nie pozwala w jasny sposób prognozować przebieg choroby a rokowanie u wielu pacjentów jest bardzo trudne do przewidzenia. W większości guzów miejscowo zaawansowanych możemy się spodziewać wyleczenia po radykalnej nefrektomii, bądź częściowym wycięciu guza w przypadku małych nowotworów. Trzeba mieć niestety świadomość, że badania statystyczne wykazują, że u około 30 % tych pacjentów może się rozwinąć choroba przerzutowa o uogólnionym charakterze [131,132]. Cały czas poszukuje się czynników, które mogłyby nam pomóc w dokładniejszym określeniu przebiegu raka nerki i pozwoliły na odróżnienie grup pacjentów, którym będzie można zaproponować leczenie uzupełniające. Mogąc rozpoznać grupy ryzyka progresji choroby będzie można zaproponować leczenie odpowiednie do stopnia rozwoju choroby. Obecnie w miejscowo zaawansowanym raku nerki czynniki prognostyczne możemy podzielić na anatomiczne, histologiczne, kliniczne i molekularne.

Do czynników anatomicznych zaliczamy wielkość guza, zakres miejscowego i uogólnionego rozwoju choroby nowotworowej. Miejscowo oceniamy rozrost guza w obrębie nerki, jak i naciek na narządy sąsiednie. Uogólnienie choroby jest postrzegane przez obecność przerzutów w układzie chłonnym, naczyniowym i odległych narządach. Do oceny czynników anatomicznych służy w Polsce i znakomitej większości pozostałych krajów europejskich system TNM, ostatnio nowelizowany w 2009r. Z powodzeniem stosuje się również kliniczny system Robsona, powszechnie używany w Stanach Zjednoczonych. Wielu badaczy jak Delahunt i wsp. z Nowej Zelandii, Moch i WSP. ze Szwajcarii, Minervini i wsp. z Włoch wykazało, że stopień zaawansowania guza jest ważnym, niezależnym wskaźnikiem prognostycznym [128,133-136].

Czynniki histologiczne obejmują komórkowy stopień złośliwości zaproponowany przez Fuhrmana, histologiczne podtypy, obecność komponenty

mięsakowej, nacieki mikronaczyniowe, martwicę guza i naciek układu zbiorczego nerki. Stopień złośliwości komórkowej jest najszerzej akceptowanym histologicznym czynnikiem prognostycznym, jego wartość prognostyczna była potwierdzana przez wielu badaczy. Delahunt i wsp. badając grupę 130 pacjentów z Nowej Zelandii uznali stopień złośliwości komórkowej za znamienny rokowniczo czynnik w analizie pięcioletnich przeżyć u pacjentów poddanych radykalnej nefrektomii z intencją wyleczenia (p=0.04) [128,133,134]. Obecność martwicy w obrębie guza jest również ugruntowanym niezależnym czynnikiem prognostycznym złego rokowania w miejscowo zaawansowanym guzie [129,137]. Nacieczenie układu zbiorczego nerki jest rzadko wykorzystywanym , ale również niekorzystnym czynnikiem, szczególnie w przypadku guzów z niskim stopniem zaawansowania klinicznego [129].

Oceniając stan kliniczny pacjenta najczęściej korzystamy ze skali Karnofskiego lub oceny sprawności klinicznej pacjenta stosowanej przez Estern Cooperative Oncology Group(ECOG).Są to skale, pozwalająca określić stan ogólny i jakość życia pacjenta z chorobą nowotworową [34,35]. Wielu badaczy potwierdzało ich korelację z progresją choroby [128,138,139]. Badacze z Uniwersytetu Michigan wykazali znamienną statystyczną zależność pomiędzy symptomatycznym a sporadycznym rakiem nerkowokomórkowym na korzyść tego drugiego. Analizę przeprowadzono wieloczynnikowo pod kątem przeżyć wolnych od wznowy jak i przeżyć związanych z nowotworem [140].

Jest wiele czynników molekularnych, które wykazują powiązanie z przeżyciem chorych z rakiem nerki. Czynnik wzrostu śródbłonka naczyń jest związany z bardziej agresywną formą raka, a wzrost ekspresji czynnika wzrostu śródbłonka naczyń, przez wielu badaczy zostało uznane, jako negatywny czynnik prognostyczny [141]. Wysoki poziom anhydrazy węglanowej IX (CA IX) został uznany przez niektórych autorów za niezależny pozytywny czynnik prognostyczny w zaawansowanym jasnokomórkowym raku nerki. Jednak Bui MH z zespołem badaczy czy Leibovivh BC wraz z zespołem na podstawie przeprowadzonych badań oceniających rolę anhydrazy węglanowej IX nie potwierdzili jego roli w prognozowaniu raka nerki [142;143]. Naukowcy są również podzieleni co do przydatności rokowniczej białka p53, jednak są zgodni, że jego ekspresja jest związana z gorszym przebiegiem choroby. Inny

czynnik Ki-67 jest uważany przez zespół badaczy pod przewodnictwem Bui MH za niezależny negatywny czynnik prognostyczny przeżycia [142]. Molekularne czynniki prognostyczne mają duży potencjał dla badań przesiewowych, diagnozy i monitoringu przebiegu raka nerki. Pomimo to obecnie mamy niewystarczającą ilość danych do stosowania ich w rutynowej praktyce klinicznej. Celem dokładniejszego przewidywania wyników leczenia jasnokomórkowego raka nerki opracowano kilka nomogramów i rokowniczych algorytmów dotyczących przeżycia chorych oraz przewidywania nawrotu nowotworu po nefrektomii. Nomogram przedstawiony przez badaczy z Memorial Sloan-Kettering Cancer Center korzysta z klinicznych czynników rokowniczych takich jak stopień patologicznego zaawansowania nowotworu (pT), wielkość guza, histologiczny podtyp, stopień złośliwości komórkowej według Fuhrmana, inwazja naczyń krwionośnych, oraz stan kliniczny pacjenta w momencie rozpoznania raka [127,144]. Zespół z Mayo Clinic opracował skalę punktacji SSIGN uwzględniającą stopień zaawansowania nowotworu(ang. stage), wielkość (size), stopień złośliwości (G) oraz występowanie martwicy w guzie (necrosis).

Kliniczne czynniki prognostyczne związane z całkowitym przeżyciem chorych na jasnokomórkowego raka nerki są szeroko omawiane w literaturze i poddawane ocenie w większości prac badawczych. Powszechnie wiadomo, że do niekorzystnych czynników rokowniczych należy: palenie papierosów, przewlekłe stosowanie analgetyków, przewlekłe stosowanie diuretyków, ekspozycja na kadm, ekspozycja na azbest, dieta wysokobiałkowa, picie dużych ilości kawy, otyłość [4]. Ocena parametrów ostrej fazy w prognozowaniu raka nerki w większości prac ograniczona jest do białka C-reaktywnego oraz cytokin prozapalnych. W mojej pracy skupiłem się na poszukiwaniu czynników prognostycznych mogących pomóc w określeniu rokowania u chorych po nefrektomii z powodu raka nerki z miejscowo zaawansowanym guzem. Poszukiwałem prostych, łatwo dostępnych w praktyce klinicznej parametrów. Do badania włączyłem wyniki morfologii, kreatyniny, żelaza, dehydrogenazy mleczanowej oraz białka C-reaktywnego i interleukiny – 6 uzyskane u pacjentów dobę przed operacją, sześć dni i sześć miesięcy po zabiegu. Otrzymane wyniki skorelowałem z prowadzoną podczas badania pięcioletnią

obserwacją przeżycia. Poddałem również analizie relacje IL – 6 oraz CRP z przeżyciem związanym z rakiem nerki. Uzyskane wyniki poddałem poniższej analizie.

Mimo że od opisania CRP upłynęło już ponad pół wieku, jego oznaczanie dość długo nie znajdowało szerszego zastosowania w praktyce klinicznej. Wynikało to bowiem z tego, że dostępne metody umożliwiały jedynie wykonywanie szacunkowych analiz, których wykorzystanie w celach diagnostycznych było ograniczone lub nawet wątpliwe. Wprowadzenie ilościowych metod immunochemicznych i immunohistochemicznych umożliwiło dokładne określenie stężenia CRP. Badanie stężenia CRP może mieć dziś duże znaczenie we wczesnej diagnostyce stanów zapalnych, w różnicowaniu zakażeń bakteryjnych i wirusowych, w nowotworach, ocenie skuteczności leczenia oraz monitorowaniu i prognozowaniu wielu schorzeń przebiegających z reakcją ostrej fazy. CRP jest obecnie uznawane za czuły wskaźnik, sugerujący obecność procesu zapalnego i odzwierciedlający jego nasilenie. Zwiększone stężenie białka C−reaktywnego jest niezaprzeczalnym dowodem obecności procesu chorobowego. Monitorowanie białka C-reaktywnego wydaje się dobrym testem diagnostycznym procesu chorobowego [45,76]. Normalizacja stężenia CRP jest nieomylnym wykładnikiem powrotu pacjenta do zdrowia [77-81]. Stężenie białka CRP wzrasta już po 6–8 godzinach (niekiedy wcześniej, nawet po ok. 2 godz.) od chwili zadziałania w ustroju czynnika patogennego, a więc w okresie, gdy nie istnieją jeszcze możliwe do wykrycia za pomocą innych badań laboratoryjnych zmiany patologiczne. Białko C−reaktywne może być parametrem rozróżniającym zakażenie bakteryjne i wirusowe. Nie obserwuje się bowiem znamiennego wzrostu CRP w zakażeniach wirusowych. Nakayama z zespołem [48] określali u pacjentów stężenie białka C−reaktywnego w zakażeniach bakteryjnych i wirusowych. W ostrej fazie schorzeń bakteryjnych średnie stężenie CRP wynosiło 81 mg/l, w okresie rekonwalescencji, po siedmiu dniach trwania choroby obniżyło się do 16 mg/l, normę osiągało natomiast po około 2–3 tygodniach. W zakażeniach wywołanych przez adenowirusy średnie stężenie CRP wynosiło 19 mg/l, a po upływie tygodnia obniżyło się do 2 mg/l [48].

W ciągu kilku ostatnich lat ocenę stężenia białka CRP przeprowadzano w wielu badaniach klinicznych. Badania te prowadzone były w wielu schorzeniach, u podłoża których, obserwuje się stan zapalny. Wymienić tutaj można następujące jednostki chorobowe: zapalenie kości i stawów, reumatoidalne zapalenie stawów, zapalenie wsierdzia, choroba Alzheimera, choroby oczu, gdzie zwiększone stężenie białka C−reaktywnego stwierdza się w zapaleniu wewnątrzgałkowym oraz u chorych ze stanem zapalnym tkanki łącznej, zapaleniem rogówki i zapaleniem błony naczyniowej [67]. Wzrost stężenia CRP obserwowano również w przebiegu procesu nowotworowego. W dostępnym piśmiennictwie opisano przypadki zwiększonego stężenia białka CRP w takich nowotworach jak: rak piersi, płuc, jajnika czy przełyku [59-64].

W mojej pracy przeprowadzono ocenę prognostycznych czynników (CRP i IL-6) w poszczególnych przedziałach czasowych u pacjentów z rakiem nerki. Obserwowano wyraźnie wyższe wartości CRP i IL-6 przed zabiegiem oraz w 6 dobie po zabiegu w porównaniu z wartościami w/w parametrów ocenianych 6 miesięcy po zabiegu Wykazano zależności pomiędzy wartością CRP przed zabiegiem i CRP w 6-tej dobie po zabiegu ($p<0,001$) oraz między wartością CRP w 6-tej dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu ($p<0,001$). W odniesieniu do IL-6 stwierdzono statystycznie istotna zależność pomiędzy poziomem przed zabiegiem i w 6-tej dobie po zabiegu ($p<0,001$) oraz w 6 dobie po zabiegu a 6 miesięcy po zabiegu ($p<0,001$). Analizując otrzymane wyniki CRP i IL-6 przed zabiegiem z podziałem na dwie grupy (przeżyli N=74, nie przeżyli N=15) wykazano statystycznie istotne korelacje w odniesieniu do CRP ($p=0,004$) i IL-6 ($p=0,0010$). U osób którzy zmarli z powodu RCC stwierdzono przed zabiegiem średnią wartość CRP na poziomie 49,70±57,49 w porównaniu z grupą pacjentów żyjących gdzie średnie wartości CRP wyniosły 12,93±27,58. Badana IL-6 wykazały również wyższe średnie wartości w grupie zmarłych pacjentów (23,46±28,80) w porównaniu z grupą żyjących (9,23±26,92).

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że im niższe stężenie CRP przed zabiegiem tym dłuższy czas przeżycia pacjentów z RCC ($p=0,0001$). Uzyskano również korelacje pomiędzy wartościami IL-6 a czasem przeżycia w badanej grupie. Oznaczenie IL-6 przed zabiegiem oraz 6 miesięcy po zabiegu pozwoliło na określenie czasu przeżycia i wykazało, że im wyższa

wartość IL-6 tym krótszy czas przeżycia (IL-6_0 p=0,0096, IL-6_6M p=0,049). Natomiast pozostałe korelacje nie wykazywały istotności statystycznej.

W analizie ogólnych przeżyć pacjentów chorych na raka nerki włączonych do badania w zależności od początkowych wartości CRP i IL-6 uzyskanych przed zabiegiem usunięcia nowotworowo zmienionej nerki, stwierdzono dłuższy ogólny czas przeżycia u chorych z początkowo prawidłowymi wartościami CRP i IL-6 w porównaniu z grupą pacjentów, u których parametry wyjściowe były poza normą. U 37 pacjentów stwierdzono przed zabiegiem podwyższony poziom CRP, z czego 12 pacjentów (32%) zmarło. Natomiast w grupie 52 chorych z wyjściowo prawidłowymi wynikami badania CRP zgon stwierdzono u 3 pacjentów. Badając stężenia IL-6 przed zabiegiem wykazano w grupie 24 chorych z podwyższonym poziomem IL-6 zgon u 9 pacjentów (38%) natomiast w grupie 74 pacjentów z prawidłowym wynikiem obserwowano zgon u 6 chorych (9%). Oceniając wyniki IL-6 i CRP po 6 dniach i 6 miesiącach po zabiegu nie wykazano statystycznie istotnych krzywych przeżyć wg Kaplana-Meiera.

Dotychczas zostało przeprowadzonych wiele badań dotyczących czasu przeżycia związanego z rakiem nerki. Lamb i współautorzy na podstawie przeprowadzonych badań na grupie 100 pacjentów z rakiem nerki wykazali wpływ stężenia CRP przed zabiegiem na przebieg choroby oraz przeżycia związane tylko z rakiem nerki. Wykazali u pacjentów z wyjściowymi wynikami CRP powyżej 10 mg/dl czas przeżycia związany z rakiem wynosił 71 miesięcy w porównaniu z grupa chorych z CRP poniżej 10 mg/dl, u których czas przeżycia związany z guzem nerki wynosił 96 miesięcy (p=0,001) [145]. Ten sam zespół badaczy dwa lata później przeprowadził kolejna analizę na grupie 60 pacjentów z jasnokomórkowym rakiem nerki. Analizie poddano zależność białka ostrej fazy (CRP), IL-6, ekspresji cyklooksygenazy (COX)-2, stężenia CD4+ i CD8+ limfocytów T a prawdopodobieństwem przeżycia związanym z nowotworem. Wykazano związek pomiędzy stężeniem CRP a czasem przeżycia chorych związanym z rakiem nerki i prawdopodobieństwem przeżycia wolnym od wznowy. Wykazano również statystycznie istotna korelację pomiędzy klasyfikacją Fuhrmana a stężeniem CD4+ limfocytów T ($p<0,05$).

Badania potwierdziły również statystyczną istotność pomiędzy stężeniem CD8+ a podwyższonym poziomem ekspresji dla IL-6 (p=0,057) [146].

W literaturze istniej wiele doniesień potwierdzających rolę stężenia CRP jako prognostycznie złego czynnika w raku nerki. Masuda i wsp. w badaniach przeprowadzonych na grupie 111 chorych wykazali, że stężenie CRP jest złym czynnikiem prognostycznym w raku nerki zależnym od klasyfikacji TNM i stopnia złośliwości komórkowej G [147]. Komai i współautorzy przeprowadzili badania na grupie 101 chorych poddanych radykalnej nefrektomii z powodu guza nerki (pT1-3N0M0). Oceniali oni stężenie CRP jako czynnik prognostyczny w jasnokomórkowym raku nerki. Stwierdzili u 26 pacjentów podwyższony poziom CRP (>0,5 mg/dl), z czego 12 (46%) chorych i 3 pacjentów z pozostałej grupy 75 chorych zmarło z powodu raka. Obserwowali zdecydowanie gorsze przeżycie w grupie pacjentów z podwyższonym poziomem CRP niż przy normalnym stężeniu tego białka (p<0,001) [148]. Fujikawa i współautorzy zasugerowali w swojej pracy na podstawie przeprowadzonych badań że obniżenie poziomu CRP w odpowiedzi na cytoredukcyjną nefrektomię i uzupełniającą immunoterapię przewiduje u pacjentów lepsze rokowanie [149].

Inne badania dotyczące prognozy przeżycia związanego z nowotworem na grupie 313 pacjentów z rakiem nerki przeprowadził Karakiewicz. Średni czas przeżycia wynosił 19,9 lat, a wiek badanych mieścił się w granicy między 10 a 77 lat. Większość pacjentów stanowili mężczyźni (69%). Uwzględniając stopień zaawansowania nowotworu T grupę badaną podzielił na cztery stopnie w zależności od zaawansowania. Pacjenci ze stopniem zaawansowania T1 stanowili 38,7% (N=121), z T2 14,4% (N=45), z T3 44,7% (N=140) i z T4 2,2 % (N=7). Zakres wartości CRP w tej grupie badanej wynosił 1,0-358,0 mg/L (średnia wartość 40,9mg/L). Autor wyodrębnił trzy grupy poziomu CRP: 1-4 mg/L, 4,1-23,0 mg/L i 23,1 – 358,0 mg/L i wykazał znamiennie gorsze przeżycia związane z rakiem nerki (CSS) wraz ze wzrostem wartości CRP. W swojej pracy wykazał również wzrost wartości prognostycznej nomogramu UISS o 3,7% przez dodanie kategoryzowanej wartości CRP [150].

W przeprowadzonych wcześniej badaniach wykazano związek pomiędzy stężeniem CRP w zależności od stopnia złośliwości a czasem przeżycia zarówno u chorych z rakiem nerki [145] jak również w przypadku nowotworu odbytnicy [147,151], przełyku [153] i trzustki [154]. Wykazano, że u jednej-trzeciej pacjentów poddanych resekcji odbytnicy z powodu procesu nowotworowego stwierdzono podwyższony przed zabiegiem poziom CRP. W przypadku usunięcia zmian nowotworowych w obrębie trzustki u połowy pacjentów poddanych temu zabiegowi stwierdzono podwyższony poziom białka C-reaktywnego. Pacjenci z wyjściowo podwyższonym poziomem CRP mieli krótszy czas przeżycia związany z nowotworem [152,154]. Stwierdzono również, że podwyższone wartości CRP stanowią zły rokowniczo marker u chorych z przerzutami w przebiegu raka nerki. Jednak rola CRP jako czynnika prognostycznego w raku nerki i wpływu na ogólne przeżycia nie jest do końca wyjaśniona. Badacze zastanawiają się na ile podwyższona wartość badanego białka ostrej fazy pochodzi z samego guza nerki a na ile uczestniczy w tym procesie odpowiedź cytokin prozapalnych. Interleukina 6 i interleukina 10 są kluczowymi cytokinami w procesie odpowiedzi prozapalnej [132].

Coraz większą rolę przypisuje się w regulacji progresji nowotworów cytokinom. Komórki raka jasnokomórkowego nerki charakteryzują się produkcją cytokin prozapalnych (IL-2, IFN-gamma) oraz przeciwzapalnych (IL-10, TGF-beta) [155]. Ponadto wykazano produkcję przez komórki guza nerki szeregu cytokin, takich jak: IL-6, IL-11, IL-12 [156,156], czy IL-8 [157].

IL-6 jest cytokiną plejotropową o szerokim zakresie działania widocznym szczególnie w obrębie układu immunologicznego, krwiotwórczego i nerwowego. IL-6 stymuluje wzrost komórek szpiczaka mnogiego, a hamuje proliferacje komórek raka piersi oraz czerniaka złośliwego. Pobudza ona wzrost komórek mezangialnych nerki oraz jak wykazują niektóre doniesienia stymuluje również proliferację komórek raka nerki [158]. Interleukina 6 jest rozpoznawana przez guzy jako endokrynny czynnik wzrostu ale ma również rolę supresorową poprzez zdolność aktywacji makrofagów [159]. Miki i współautorzy na podstawie przeprowadzonych badań wykazali, że w świeżo izolowanych tkankach nowotworu nerki występuje ekspresja mRNA dla IL-6, aktywność wydzielnicza IL-6 przez tkanki guza oraz przeciwciała dla IL-6 powodujące

zahamowanie wzrostu guza [160]. Inne badania prowadzone przez Takenawa i współautorów prezentują, że pierwotny guz nerki jak i linie komórkowe raka nerki prezentują ekspresję mRNA dla IL-6 i receptora dla IL-6, a pacjenci z podwyższoną ekspresją są bardziej narażeni na wystąpienie przerzutów do węzłów chłonnych oraz wykazują podwyższony poziom CRP [161]. Istnieje wiele doniesień potwierdzających rolę IL-6 jako autokrynnego czynnika wzrostu w raku nerki. Blay i współautorzy potwierdzili w swoich badaniach rolę IL-6 w raku nerki. Dowiedli, że u 48% pacjentów z RCC poziom IL-6 był znacznie podwyższony oraz korelował z podwyższonym stężeniem białka C-reaktywnego [162]. Tsukamoto i współautorzy dowiedli że podwyższony poziom IL-6 występował u 25% pacjentów z jasnokomórkowym rakiem nerki, a Hamao i współautorzy obserwowali wzrost IL-6 w 53% przypadków [163,164]. W badaniach grupy japońskiej stwierdzono podwyższony poziom IL-6 w całej grupie badaniej (N-122) oraz wykazano korelację pomiędzy poziomem IL-6 a wielkością guza i stopniem złośliwości komórkowej G3 [165].

.Blay i współautorzy oraz Dosquet z zespołem wykazali korelację pomiędzy stężeniem IL-6 i CRP oraz stwierdzili wyższe stężenie IL-6 u pacjentów z przerzutami odległymi w przebiegu raka nerki jak i w wypadku chorych z zajęciem węzłów chłonnych [162,166]. Yoshida i współautorzy podkreślili również zależności pomiędzy stężeniem interleukiny 6, białkiem C-reaktywnym, czynnikiem martwicy nowotworu alfa i interleukiną 1 beta [165].

W mojej pracy ocenie poddano również czas przeżycia związany z guzem nerki (CSS) w zależności od wartości IL-6 I CRP. Potwierdzono wcześniejsze doniesienia literaturowe o roli w/w czynników jako prognostycznych w raku nerki. W pracy tej wykazano podwyższony poziom CRP u 37 chorych, z czego 27% zmarło z powodu raka jasnokomórkowego nerki (N=10), natomiast u 52 chorych z prawidłowymi wynikami CRP stwierdzono zgon u 1 z badanych (2%). W odniesieniu do IL-6 stwierdzono podwyższony poziom przed zabiegiem u 24 pacjentów z czego 33% zmarło z powodu raka nerki (N=8), natomiast u 65 chorych z prawidłowymi wartościami IL-6 zgon stwierdzono u 5% pacjentów z RCC (N=3).

W literaturze światowej znaleźć można również badania nad rolą białka C-reaktywnego ocenianego po zabiegu nefrektomii u pacjentów z miejscowo zaawansowanym rakiem nerki. Johnson i współpracownicy z Uniwersytetu Emory w Atlancie w Stanach Zjednoczonych monitorowali stężenie CRP przed zabiegiem i rok po wykonaniu nefrektomii z powodu jasnokomórkowego raka nerki na grupie 110 chorych (T1-3N0M0). W wieloczynnikowej analizie stwierdzono statystycznie znamienną zależność poziomu CRP po zabiegu operacyjnym i stopnia zaawansowania T w odniesieniu do przeżyć wolnych od wznowy oraz w odniesieniu do ogólnego przeżycia ($p<0,001$). Badacze wykazali że pooperacyjny poziom CRP w większym stopniu niż przedoperacyjny poziom tego białka może ułatwiać identyfikację pacjentów wysokiego ryzyka progresji co pozwoli zaproponować tym pacjentom uzupełniającą terapię lekami antyangiogennymi [167]. Badania Kamemoto przeprowadzone u pacjentów z janokomórkowym rakiem nerki w stopniu T1-2,N0M0 wykazały prawidłowy poziom IL-6 w surowicy. Stężenie IL-6 w surowicy było wyższe u chorych z zaawansowanym rakiem nerki (T3N0M0) i korelowało z podwyższonym poziomem CRP [168].

W literaturze istnieje wiele doniesień dotyczących roli klasyfikacji Fuhrmana i skali TNM w prognozowaniu przeżyć u pacjentów z rakiem nerki. Wśród licznych doniesień literaturowych poruszających ten problem zespół badaczy pod przewodnictwem Ito dokonał analizy na grupie 314 pacjentów z rakiem nerki dzieląc chorych na dwie grupy: pierwsza z dominacją stopnia złośliwości G3 oraz druga grupa ze stopniem złośliwości G1 i G2. Analizowano wpływ stopnia złośliwości G na czas przeżycia oraz na okres wolny od wznowy i nie wykazano statystycznie istotnych korelacji między grupami. Jedynie czas do pojawienia się przerzutów zależał od stopnia złośliwości i był statystycznie krótszy u pacjentów ze stopniem G3. Ocenie poddano również zależność poziomu CRP od czasu przeżycia bez wznowy u chorych z jasnokomórkowym rakiem nerki. Przedstawiono chorych w stadium N0M0 według klasyfikacji TNM, u których stężenie CRP było powyżej 1 mg/dl oraz chorych ze stężeniem CRP poniżej1,0 mg/dl. W pierwszym przypadku 5 letni czas przeżycia badanych bez wznowy wynosił 32,3%, w drugim czas przeżycia wynosił 80,8%. Pięcioletnie przeżycie związane z nowotworem było również zależne od wartości CRP.

Wykazano przeżycie u 100% chorych z CRP poniżej 1,0 mg/dl i tylko u 53,4 % pacjentów z CRP powyżej 1,0 mg/dl [169].

W mojej pracy dokonując analizy stopnia złośliwości G z czasem przeżycia chorych z jasnokomórkowym rakiem nerki znalazłem również potwierdzenie wyników prezentowanych w literaturze światowej. Wykazałem statystycznie istotne korelacje pomiędzy wartościami złośliwości komórkowej G1 a G3 (p=0,0122) oraz pomiędzy stopniem złośliwości G2 a G3 (p=0,00005). Oceniając ogólne przeżycie (OS) u chorych z rakiem nerki stwierdzono zależności pomiędzy stopniem G1 a G3 (p=0,00095) oraz G2 a G3 (p=0,0003). Wykazano krótszy czas przeżycia w grupie pacjentów z niskozróżnicowanym rakiem G3 średnio 31,8±22,3 miesięcy w porównaniu z pozostałymi grupami lepiej rokującymi G1 ze średnim czasem przeżycia 51,4±12,0 miesiące i G2 ze średnim czasem przeżycia 52,3±12,3 miesiące. Ocenie poddano również korelacje czasu przeżycia do wartości ocenianej wg klasyfikacji TNM. Na podstawie otrzymanych wyników stwierdziłem zdecydowanie krótszy czas przeżycia w grupie pacjentów ze stopniem zaawansowania klinicznego T3 N0M0 (średni czas 37,8±21,92 miesiące) w porównaniu z grupą chorych ze stopniem zaawansowania T1 lub T2. Podobne zależności wykazałem analizując przeżycia związane z rakiem nerki. Po wykluczeniu z grupy badanej pacjentów, którzy zmarli z innego powodu niż guz nerki obserwowałem krótsze przeżycia związane z rakiem nerki u pacjentów ze stopniem zaawansowania T3 w porównaniu z grupą pacjentów, u których zaawansowanie kliniczne mieściło się w przedziale T1 i T2, istotność statystyczna wynosiła p=0,00056. Analogicznie obserwowałem krótsze przeżycie u pacjentów ze stopniem złośliwości nowotworu ocenianym jako G3 w porównaniu ze stopniem Fuhrmana G1 lub G2, przy istotności statystycznej na poziomie p=0,00092.

Wyniki moich badań są podobne do prezentowanych przez zespół Japoński. Komai i współautorzy wykazali na podstawie badań przeprowadzonych na grupie 101 pacjentów z jasnokomórkowym rakiem nerki czas przeżycia związany z nowotworem dłuższy w grupie pacjentów ze stopniem złośliwości G1 na poziomie 92% w porównaniu z grupą chorych z RCC ze stopniem złośliwości G3, gdzie czas przeżycia wynosił 53%. Otrzymane wartości wykazywały cechy znamienności statystycznej (p<0,001).

Grupa badaczy wykazała również zależność stopnia zaawansowania klinicznego T w odniesieniu do 5 letniego czasu przeżycia. W grupie 63 pacjentów ze stadium T1 przeżycie 5 letnie wynosiło 97 % a w grupie 22 chorych ze stadium T3 przeżycie 5-letnie wyniosło 60%. Otrzymane wyniki miały istotność statystyczną ($p<0,001$) [170].

Kolejnym badaczem, który uzyskał wcześniej podobne do moich wyniki jest Mugiya z zespołem. W przeprowadzonych badaniach na grupie 617 pacjentów z rakiem nerki miejscowo zawansowanym w stadium T1-3 N0M0 badacze wykazali pięcioletnie przeżycie na poziomie 88%. Wskazali na związek podwyższonego poziomu CRP ze stopniem złośliwości G oraz stopniem zaawansowania T. Używając oceny ROC określili punkt odcięcia dla CRP na poziomie 0,25 mg/dl jako wartości czułej i swoistej przy przewidywaniu wystąpienia nawrotu [171].

W mojej pracy, na podstawie krzywych ROC wykazałem wartość diagnostyczną dla następujących parametrów ocenianych przed zabiegiem operacyjnym: CRP, IL-6, erytrocyty, hemoglobina i hematokryt. Punkt odcięcia dla CRP wyznaczono na poziomie 7,2 mg/dl jako wartości czułej i swoistej przy przewidywaniu zgonu. Wzrost ryzyka niepowodzenia terapeutycznego u pacjentów z rakiem nerki obserwowałem na podstawie moich badań przy poziomie IL-6 równym 3,952 pg/dl. Oceniając poziom erytrocytów u chorych z jasnokomórkowym rakiem nerki, na podstawie przeprowadzonych analiz ROC, wykazałem wartość odcięcia na poziomie 4,46 pg/dl, a dla hemoglobiny na poziomie 8,2mmol/l. Wzrost prawdopodobieństwa zgonu w grupie badanej obserwowałem przy wartości hematokrytu na poziomie 39,5%.

W literaturze istnieją również doniesienia o roli parametrów morfologii krwi oraz biochemicznych wskaźników w prognozowaniu raka nerki. Komai i współautorzy w grupie 101 pacjentów z rakiem nerki w badaniach przeprowadzonych przed zabiegiem wykazali obniżony poziom hemoglobiny u 27 pacjentów, ale nie wykazywała ona statystycznych zależności w odniesieniu do prawdopodobieństwa przeżycia związanego z chorobą [148]. Inni badacze japońscy wykazali obniżony poziom hemoglobiny u 25 chorych z grupy 111

badanych i stwierdzili wystąpienie zgonu związanego z rakiem u 8 chorych z wyjściowo niższymi poziomami hemoglobiny (HGB<12 mg/dl) [147].

W badaniach przeprowadzonych na grupie 1707 z jasnokomórkowym rakiem nerki Magera i wraz z zespołem wykazali zgon u 1009 pacjentów, z czego 425 zmarło z powodu guza nerki średnio 3 lata po zabiegu operacyjnym(okres obserwacji 0 – 26lat). W przeprowadzonych przez zespół Kliniki Mayo w Rochester badaniach poddano ocenie również wartości parametrów morfologii (hemoglobina), OB., fosfatazę alkaliczną oraz hiperkalcemię. Obniżone wartości hemoglobiny wykazano u 584 osób (35%) badanych. Na uwagę zasługuje fakt, że podobnie jak w mojej pracy, pacjenci z anemią przed zabiegiem częściej umierali z powodu raka nerki w porównaniu z chorymi z prawidłowymi wartościami hemoglobiny. Badacze pod kierownictwem Magera obserwowali również występowanie hiperkalcemii jako czynnika prognostycznie złego w przypadku przerzutowego raka nerki jak i czynnika złego w określaniu czasu przeżycia związanego z rakiem. W badaniach tych potwierdzono również inne doniesienia zamieszczone w literaturze o roli oznaczenia OB w raku nerki. Stwierdzono przyspieszone OB. u 297 pacjentów (44%) z grupy 677 badanych i wykazano że marker ten należy do złych prognostycznie czynników u pacjentów z rakiem nerki. W podsumowaniu pracy stwierdzono, że wzrost poziomu wapnia we krwi, anemia oraz podwyższony poziom Odczynu Biernackiego powodują wzrost ryzyka śmierci związanej z rakiem (CSS) u pacjentów z jasnokomórkowym rakiem nerki zaawansowanym miejscowo [172].

Niedokrwistość jest często obserwowana u pacjentów ze świeżo zdiagnozowany rakiem nerki, zanim włączone zostało leczenie [173]. Rozpatrywano wiele mechanizmów prowadzących do wystąpienia anemii, między innymi na drodze redukcji metabolizmu żelaza i podwyższeniu poziomu zapalnych cytokin co skutkuje obniżeniem produkcji erytropoetyny przez nerki. Anemia może również być wynikiem niedotlenienia w obrębie guza spowodowanym jego agresywnym wzrostem, tak jest w przypadku wielu guzów w tym również w raku nerki [174,175]. Związek pomiędzy niedokrwistością a śmiercią z powodu raka jasnokomórkowego nerki był również szeroko badany i potwierdzany przez Union Internationale Contre le Cancer (UICC) / American

Joint Committee on Cancer (AJCC) jako znamienny statystycznie rokowniczy czynnik przeżycia w zaawansowanym raku nerki [138]. Jeśli weźmiemy pod uwagę przypadki raka nerki oceniając łącznie formę miejscowo zaawansowaną i przerzutową, wpływ niedokrwistości jako czynnika prognostycznego nie jest jednoznaczny [176-178].

Ramsey i współautorzy przeprowadzili badania na grupie 83 pacjentów z RCC analizując stopień zaawansowania guza, stopień złośliwości guza według klasyfikacji Fuhrmana, wielkość guza, nomogramy Kattana, SSIGN, UISS oraz poziomy hemoglobiny, leukocytów, albumin, płytki krwi, CRP i TNF-α w zależności od przewidywalnego czasu przeżycia bez wznowy oraz od przeżycia związanego z guzem. Wykazali statystycznie istotne korelacje w odniesieniu do przeżyć związanych z rakiem nerki dla stopnia zaawansowania klinicznego T ($p=0,012$), TNF-α ($p= 0,006$), CRP ($p=0,010$), nomogramu UISS ($p<0,001$) i nomogramu SSIGN ($p=0,005$). Obniżone wartości hemoglobiny stwierdzono u 19 pacjentów z grupy 83 poddanych badaniom i nie wykazano statystycznie istotnych korelacji pomiędzy przeżyciami związanymi z rakiem a poziomem hemoglobiny. Wykazano natomiast statystycznie istotną korelację ($p<0,001$) w ocenie całkowitego przeżycia związanego z nowotworem w odniesieniu do nadpłytkowości we krwi obwodowej. Statystycznie istotne zależności występowały między stężeniem CRP w dwóch przedziałach (CRP poniżej 10 mg/dl i CRP powyżej 10 mg/dl) a wartościami hemoglobiny HBG >12/<12 g/dl ($p=0,026$). Udało się również wykazać korelację między dwoma grupami w zależności od wartości CRP (CRP poniżej 10 mg/dl i CRP powyżej 10 mg/dl) a wielkością guza (poniżej lub powyżej 5cm) $p=0,012$ [132]. Moje badania pokazały również zależność pomiędzy czasem przeżycia związanym z guzem a poziomem płytek przed zabiegiem operacyjnym. Wykazano wystąpienie nadpłytkowości u 15 pacjentów z czego pięciu chorych zmarło co stanowi 33% w porównaniu z grupą 74 pacjentów z prawidłowymi wynikami płytek krwi przed zabiegiem usunięcia guza nerki, w grupie których śmierć stwierdzono u sześciu chorych co stanowi 8%. Pomimo że liczne doniesienia światowej literatury wykazują brak związku pomiędzy poziomem hemoglobiny a czasem przeżycia związanym z nowotworem w niniejszej pracy taka zależność występowała. Stwierdzono u 13 chorych obniżony poziom hemoglobiny natomiast u 76

pacjentów prawidłowe wartości referencyjne. Pięciu chorych z wynikami w postaci obniżonego poziomu hemoglobiny zmarło (38%) natomiast w grupie 76 pacjentów z prawidłowymi wynikami badań niepowodzenie terapeutyczne wystąpiło u 6 chorych (8%). Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzić można, że obniżone przed zabiegiem wartości hemoglobiny czy podwyższone wartości płytek krwi obwodowej mogą leżeć u podstawy gorszego rokowania co do przeżycia u chorych z rakiem nerki.

Problem nadpłytkowości jest szeroko opisywany w literaturze. Pierwotna nadpłytkowość może wystąpić w przewlekłych mieloproliferacyjnych i mielodysplastycznych schorzeniach, natomiast wtórna nadpłytkowość występuje między innymi w nowotworach płuc, wątroby, przewodu pokarmowego czy szyjki macicy [179-182]. W badaniach Gogusa i współautorów na grupie 151 pacjentów poddanych radykalnej nefrektomii z powodu miejscowo zaawansowanego jasnokomórkowego raka nerki ocenie poddano poziom płytek krwi przed zabiegiem i jego wpływ na przeżycia. Badacze stwierdzili, że wystąpienie nadpłytkowości przed zabiegiem na poziomie powyżej 400 tys./mm^3 jest znamiennym negatywnym czynnikiem rokowniczym. Średni czas przeżycia dla tych chorych wynosił 45,2 miesiące w porównaniu z 76,6 miesiącami dla chorych z prawidłowym wynikiem płytek krwi przed zabiegiem($p=0,0002$) [183]. Kolejne prace potwierdzają rolę trombocytozy jako rokowniczo złego wskaźnika u pacjentów z RCC. Inoue K. i współautorzy z uniwersytetu w Tokio wykazali na grupie 196 pacjentów występowanie trombocytozy u 16 chorych (8,2%). Po zabiegu nefrektomii normalizacja wyników płytek krwi nastąpiła u wszystkich objętych badaniem. Nie wykazano istotnej statystycznie korelacji między płytkami krwi obwodowej a stopniem zaawansowania klinicznego T i zaawansowaniem stopnia złośliwości komórkowej G nowotworu [184]. Trombocytoza związana z nowotworem jest powodowana przez czynniki hormonalne produkowane przez komórki guza. Wiele typów cytokin takich jak IL-6, IL-11, trombopoetyna , GMCSF (granulocyt-macrofag colony stimulating factor) może wpływać na wzrost poziomu płytek [185]. Ostatnie badania pokazały, że trombocytoza jest głównie powodowana prze IL-6, która potencjalnie wpływa na dojrzewanie megakariocytów i

produkcję płytek. W wielu pracach wykazano związek podwyższonego poziomu IL-6 w surowicy i trombocytozy zależnej od guza [162,186,187].

W pracy ocenie poddano następujące parametry morfotyczne krwi: leukocyty, erytrocyty, hemoglobin, hematokryt i płytki krwi. Pomiaru dokonano przed zabiegiem nefrektomii, w szóstej dobie po zabiegu oraz sześć miesięcy po zabiegu. Wykazano statystycznie istotne zależności między wszystkimi trzema przedziałami w odniesieniu do wszystkich badanych parametrów morfotycznych krwi. W ocenie szczegółowych zależności udało się wykazać znamienność statystyczną między badaniami wykonanymi przed zabiegiem a w 6-tej dobie po zabiegu oraz między oznaczeniami w 6-tej dobie po zabiegu a 6 miesięcy po zabiegu dla poziomu erytrocytów, leukocytów, płytek krwi, hemoglobiny i hematokrytu. Dokonując podziału grupy objętej badaniem na dwie podgrupy pacjentów, tych którzy żyją (N=74) i zmarłych (N=15) starano się ocenić zależności w odniesieniu do parametrów morfologii krwi obwodowej. Stwierdzono, że dla erytrocytów, hemoglobiny i hematokrytu, badanych przed zabiegiem usunięcia guza nerki istnieje statystyczna korelacja między dwoma podgrupami. Pozostałe wartości w zakresie badanych parametrów nie wykazywały znamienności statystycznej. Pacjenci objęci tym badaniem mieli wartości średnie płytek krwi w granicach 249,49±83,22 dla grupy żyjących oraz 309,47 ±168,48 dla zmarłych z powodu guza, co mieściło się w granicach normy określonej przez laboratorium wykonujące oznaczenia. W badaniach w następnych punktach czasowych (po 6 dniach i 6 miesiącach) od zabiegu nie wykazano żadnych zależności między parametrami w w/w dwóch grupach chorych.

W pracy dokonano również oceny ogólnego przeżycia związanego z wartościami parametrów morfologii krwi obwodowej przed zabiegiem, sześć dni po zabiegu i sześć miesięcy po zabiegu. Wykazano, że w 30% przypadków u pacjentów którzy zmarli stwierdzono obniżony poziom hemoglobiny. W tej samej grupie chorych wykazano w 54% przypadków obniżony poziom hematokrytu. Zgon wystąpił u 10% badanych z prawidłowymi wynikami hematokrytu oznaczonymi przed zabiegiem natomiast przy prawidłowych wynikach hemoglobiny oznaczonych również przed zabiegiem zgon stwierdzono u 11% chorych. Pozostałe wartości morfotyczne badane przed

zabiegiem tj: poziom erytrocytów, leukocytów, płytek krwi oraz wszystkich parametrów ocenianych w 6 dobie po zabiegu i sześć miesięcy po zabiegu nie miały wpływu na ogólne przeżycie chorych.

W badaniach prowadzonych przez O'Keefe z Uniwersytetu w Gorgia w USA na 204 pacjentach z rakiem jasnokomórkowym nerki poddanych nefrektomii stwierdzono znamienny statystycznie wpływ podwyższonego poziomu płytek krwi powyżej 400 tys./mm^3 na przeżycia ogólne oraz związane z rakiem nerki. Oszacowano, że u pacjentów z trombocytozą ryzyko zgonu jest pięciokrotnie wyższe niż u pacjentów z prawidłowym poziomem płytek przed zabiegiem [188].

W literaturze znaleźć można również doniesienia japońskiej grupy badaczy oceniających rolę CRP i nadpłytkowości jako czynników prognostycznych w raku nerki. Trombocytoza została zdefiniowana gdy poziom płytek wykraczał ponad wartość 350 tys/mm^3. Stwierdzono na podstawie przeprowadzonych przez nich badań współwystępowanie podwyższonego poziomu CRP(>0,5 mg/dl) oraz poziomu płytek u chorych z wyższym stopniem zaawansowania guza T, wielkością guza, stopniem złośliwości komórkowej G w porównaniu z grupą pacjentów z prawidłowymi wynikami badań. Na podstawie przeprowadzonych badań Ito i współautorzy potwierdzili rolę CRP jako niezależnego czynnika prognostycznego w raku nerki (N0M0), natomiast nie wykazali takich zależności w odniesieniu do podwyższonego poziomu płytek krwi u chorych z rakiem nerki [189].

Ramsey i współautorzy z Uniwersytetu w Glasgow wykazali nie tylko związek CRP z prognozowanym czasem przeżycia ale również na podstawie dokonanych analiz wykładników morfologii krwi obwodowej stwierdzili wpływ nadpłytkowości na prognozowany czas przeżycia związany z nowotworem. Badania przeprowadzili na grupie 84 osób z RCC i stwierdzili podwyższony poziom płytek u 9 badanych (PLT>400tys/mm$^{3)}$. Wykazano związek płytek krwi obwodowej z przeżyciem chorych związanym z rakiem nerki przy $p<0,001$ ale uznano to jako zdecydowanie słabszy prognostyczny marker w ocenie przeżyć specyficznych dla raka, u chorych z rakiem nerki w porównaniu z wartością prognostyczną CRP [132]. Natomiast moje badania nie wykazały

statystycznych korelacji pomiędzy stężeniem CRP czy IL-6 a parametrami morfologicznymi i biochemicznymi krwi obwodowej zarówno przed zabiegiem, w szóstej dobie po zabiegu jak i sześć miesięcy po zbiegu.

W pracy analizie poddano również wpływ kreatyniny, żelaza, cholesterolu całkowitego i dehydrogenazy mleczanowej na czas przeżycia. W dostępnej literaturze nie ma wielu doniesień opisujących rolę cholesterolu czy kreatyniny u chorych z rakiem jasnokomórkowym nerki. Bibolo z zespołem badał na grupie 767 pacjentów z rakiem nerki między innymi wpływ cholesterolu na ryzyko wystąpienia nowotworu nerki. Wykazał średnią wartość cholesterolu na poziomie 291,5 mg% natomiast nie miała ona wartości statystycznie istotnej w odniesieniu do raka nerki [190].

Badania Drabkina i współautorów ukazały związek pomiędzy rolą gospodarki lipidowej i jej wpływem na regulację procesów białkowych w raku nerki co może mieć duży wpływ na nowe kierunki terapeutyczne [191].

W moich badaniach średni poziom cholesterolu wśród chorych z rakiem nerki wynosił przed zabiegiem 5,24±1,01mmol/l, w szóstej dobie po zabiegu 4,88±0,95 mmol/l i sześć miesięcy po zabiegu 5,84±1,13 mmol/l. Średni poziom kreatyniny wynosił przed zabiegiem 84,58±23,47 mikromol/l, w szóstej dobie po zabiegu 110,72±38,48 mikromol/l i sześć miesięcy po zabiegu 105,71±34,54 mikromol/l,. Wartości średnie obu parametrów laboratoryjnych mieściły się w granicach normy i podobnie jak dostępne w literaturze doniesienia poruszające problem wskaźników biochemicznych w raku nerki jako czynników prognostycznych, również moja badania potwierdzają znikomą rolę tych oznaczeń jako rokowniczych w raku nerki. Nie stwierdzono również na podstawie przeprowadzonych badań wpływu stężenia w/w parametrów na ogólny czas przeżycia czy na czas przeżycia związany z nowotworem.

Żelazo należy do pierwiastków niezbędnych do wzrostu każdej komórki. Jest ono kofaktorem kluczowych enzymów uczestniczących w procesach związanych z cyklem komórkowym. W krążeniu występuje w postaci związanej z transferryną. Zarówno komórki prawidłowe jak i nowotworowe wychwytują żelazo na drodze endocytozy za pośrednictwem receptorów dla transferyny. Niektóre komórki posiadają zdolność wychwytu żelaza na drodze adsorpcyjnej

pinocytozy, aczkolwiek proces ten jest znacznie mniej wydajny [192]. Problem niedokrwistości występujący u pacjentów z chorobami rozrostowymi już w XIX wieku stanowił inspirację dla wielu badaczy ale dopiero w ostatnich 15 latach udało się wyjaśnić przyczynę występowania niedokrwistości w takich przypadkach. Przyczyny niedokrwistości u pacjentów z nowotworem jest wieloczynnikowa. U niektórych pacjentów w wyniku odpowiedzi immunologicznej na obecność guza produkowane są przeciwciała, które niszczą czerwone krwinki (autoimmunologiczna niedokrwistość hemolityczna), lub hamuje produkcję czerwonych krwinek (czysta aplazja czerwonych krwinek). W innym przypadku niszczy śródbłonki naczyń przez czopy martwicze lub aktywacja koagulacji przez komórki guza powoduje mechaniczne zniszczenie krwinek czerwonych i przedwczesną ich śmierć (mikronaczyniowa niedokrwistość hemolityczna) [175].

W prezentowanej pracy średnie wartości żelaza oznaczane przed zabiegiem i sześć miesięcy po zabiegu były w granicach normy. Wyraźnie obniżony był poziom żelaza w szóstej dobie po zabiegu i wynosił 7,66±3,70 mikromol/l co można tłumaczyć utratą krwi podczas zabiegu. U pacjentów, którzy nie przeżyli z powodu raka stężenie żelaza przed zabiegiem było niższe (11,89±10,11 mikromol/l) w porównaniu z grupą żyjąca (średnie wartości 18,61±8,47 mikromol/l). Obniżony poziom żelaza może być również złym czynnikiem rokowniczym w odniesieniu do czasu prawdopodobnego przeżycia u chorych z rakiem nerki. W moich badaniach dokonując podziału na dwie grupy (żyjących N=74 i zmarłych N=15) stwierdziłem obniżony poziom żelaza w grupie 13 pacjentów wśród których 7 chorych (54%) zmarło. Potwierdza to statystycznie istotną zależność (p=0,00017) że im niższy poziom żelaza przed zabiegiem tym gorsze rokowanie dla chorych z rakiem nerki. Uzyskano również potwierdzenie wpływu poziomu żelaza na czas przeżycia związany z rakiem. Podzielono chorych na dwie grupy. W grupie 11 pacjentów zmarłych z powodu nowotworu nerki u 6 chorych stwierdzono obniżony poziom żelaza natomiast w grupie pacjentów żyjących stwierdzono obniżone stężenie żelaza u 7 chorych. Istotność statystyczna wynosiła P<0,0001.

Wśród badanych markerów biochemicznych krwi obwodowej w pracy ocenie poddano również dehydrogenazę mleczanową. Wykazano statystycznie

istotne korelacje pomiędzy LDH badanym sześć miesięcy po zabiegu a czasem przeżycia związanym z guzem. Dokonując podziału grupy badanej na pacjentów, którzy przeżyli oraz tych, którzy zmarli, stwierdzono wyraźnie wyższe wartości LDH oznaczonej sześć miesięcy po zabiegu w grupie zmarłych (zakres wartości 315,0-573,0) w porównaniu z grupą żyjących (zakres wartości 228,0-597,0) z wyraźną statystyczną istotnością (p=0,0383). Pozostałe analizy nie wykazywały korelacji.

W literaturze spotkać można liczne doniesienia o roli dehydrogenazy ale w przerzutowym raku nerki. Citterio i współautorzy na grupie 109 pacjentów z przerzutowym rakiem nerki starali się wykazać związek pomiędzy przeżyciem, a wskaźnikami laboratoryjnymi celem lepszego doboru metod terapeutycznych u tych chorych. Ocenie poddali między innymi poziom hemoglobiny, kreatyniny, albumin, wapnia, dehydrogenazy mleczanowej, ferrytyny, alkalicznej fosfatazy i triglicerydów. Udało się wykazać istotność statystyczną w odniesieniu do hemoglobiny, albumin i dehydrogenazy mleczanowej ($p<0,01$), ale tylko rozpoznanie niedokrwistości u pacjentów z przerzutowym rakiem nerki może stanowić zły rokowniczo marker [193].

W mojej pracy analizie poddano również zależność pomiędzy prawdopodobieństwem ogólnego przeżycia jak i przeżycia związanego z guzem a wskaźnikami biochemicznymi krwi u chorych z RCC oznaczonymi w okresie sześciu miesięcy po zabiegu operacyjnym. W ocenie przeżyć wg. skali ROC obserwowano zależność diagnostyczna dla dehydrogenazy mleczanowej przy wartości 0,78. Na podstawie uzyskanych badań statystycznych potwierdzić możemy rolę dehydrogenazy mleczanowej jako markera w ocenie przerzutów w raku nerki. Biorąc pod uwagę doniesienia literaturowe parametr w/w może stanowić o złym rokowaniu u pacjentów z RCC.

Istnieje również wiele doniesień w literaturze światowej opisujących problem wielkości guza u chorych z rakiem nerki. Między innymi Yoshida i zespół badaczy wykazali zależności pomiędzy stężeniem IL-6 a wielkością guza, natomiast zespół pod przewodnictwem Tsukamoto nie stwierdził w swoich badaniach takich zależności [164,165]. W mojej pracy przyjąłem wartość 7 centymetrów wielkości guza nerki jako granicę podziału na dwie grupy

chorych. W pracy wykazano statystycznie istotną korelację pomiędzy wielkością guza a czasem przeżycia i stwierdzono krótszy okres przeżycia u chorych z większymi rozmiarami guza (p=0,0402). W przeprowadzonej analizie z użyciem krzywych ROC wartość diagnostyczna dla wielkości guza wyniosła 0,71. Proponowany w analizie punkt odcięcia dla wielkości guza wynosi 8 cm. Czułość dla tej wartości wynosi 0,60, a swoistość 0,676. Porównywalne wyniki można znaleźć w dostępnej światowej literaturze. Między innymi badania prowadzone przez zespół pod przewodnictwem Mocha na grupie 487 pacjentów z rakiem jasnokomórkowym nerki wykazały, że wielkość guza powyżej 7,0 cm stanowić może miejsce odcięcia i wskazuje na zwiększone ryzyko wystąpienia przerzutów. Opisywali oni również gorsze rokowanie u pacjentów ze stadium T3/T4 (p<0,0012) oraz zaawansowaniem G3 u chorych z jasnoklomórkowym rakiem nerki [136].

Poruszany w wielu pracach krajowych i zagranicznych problem dotyczący wskazania czynników prognostycznych w raku jasnokomórkowym nerki wydaje się mieć duże znaczenie. Stale prowadzone badania w wielu znakomitych ośrodkach pozwalają nam coraz dokładniej określić najistotniejsze wskaźniki prognostyczne mające wpływ na dobór leczenia oraz na możliwość przewidzenia dalszego rokowania. W pracy starałem się zaznaczyć i ukazać rolę najważniejszych parametrów, które wydają się odgrywać rolę w prognozowaniu u chorych z jasnokomórkowym rakiem nerki.

6. WNIOSKI

Przeprowadzone badania i obserwacje doprowadziły do sformułowania następujących wniosków:

1. Podwyższony poziom białka C-reaktywnego oraz IL-6 przed zabiegiem stanowi niekorzystny czynnik rokowniczy w odniesieniu do czasu całkowitego przeżycia i związanego z chorobą u chorych poddanych radykalnej nefrektomii z powodu jasnokomórkowego raka nerki.
2. Niedokrwistość oraz obniżone stężenie żelaza poniżej dolnej granicy normy przed zabiegiem stanowiły istotne, niekorzystne czynniki rokownicze w odniesieniu do czasu przeżycia całkowitego i związanego z chorobą. Parametry hematologiczne ani biochemiczne krwi obwodowej oceniane 6 dni oraz 6 miesięcy po zabiegu operacyjnym nie miały żadnej wartości prognostycznej.
3. Spośród badanych parametrów obniżenie poziom hemoglobiny i żelaza oraz podwyższony poziom płytek krwi, IL – 6 i CRP we krwi obwodowej pacjentów przed nefrektomią z powodu miejscowo zaawansowanego raka nerki mogą być wartościowymi wskaźnikami diagnostycznymi w późniejszej selekcji do terapii uzupełniającej.
4. Stopień złośliwości histologicznej oraz stopień zaawansowania miejscowego guza nerki stanowiły niezależne czynniki rokownicze w odniesieniu do czasu przeżycia całkowitego i związanego z chorobą.

.

7. STRESZCZENIE

Rak nerki stanowi około 3 do 4 % nowotworów złośliwych u dorosłych. W Polsce w 2006r. nowotwory nerek rozpoznano u 2283 mężczyzn i 1483 kobiet. Liczba zgonów spowodowanych nowotworami nerek wynosiła 1558 u mężczyzn i 884 u kobiet. Przyczyna powstawania raka nerki nie jest do końca wyjaśniona. Podobnie jak inne nowotwory rak ten rozwija się w wyniku zaburzeń na poziomie genetycznym. Występowanie raka nerki jest warunkowane przez szereg czynników środowiskowych.

Czynniki prognostyczne w raku nerki możemy podzielić na anatomiczne, histologiczne, kliniczne i molekularne. Czynniki anatomiczne powszechnie wspólnie objęte są klasyfikacją TNM i stanowią obecnie najbardziej przydatny czynnik rokowniczy. Do czynników histologicznych zaliczamy stopień zróżnicowania złośliwości komórkowej guza, rodzaj utkania komórkowego raka, obecność struktur mięsakowych, nacieki naczyniowe, obecność martwicy guza oraz naciek na układ zbiorczy nerki. Oceniając stan kliniczny pacjenta najczęściej korzystamy ze skal oceny sprawności klinicznej pacjenta, pozwalających określić stan ogólny i jakość życia pacjenta z chorobą nowotworową. Wiele czynników molekularnych jest badanych pod kątem przydatności klinicznej w prognozowaniu przebiegu raka nerki. Zaliczamy do nich również interleukinę-6 oraz białko C-reaktywne.

Interleukina-6 jest cytokiną należącą do rodziny hematoprotein. Produkowana jest przez limfocyty T, makrofagi i monocyty, fibroblasty, hepatocyty, komórki śródbłonka. Cytokina ta uwalniana jest w odpowiedzi na stan zapalny, infekcję, wstrząs oraz proces nowotworzenia.

Białko CRP jest syntetyzowane głównie przez komórki Browicza−Kupffera oraz przez hepatocyty. Jego ekspresję stwierdza się również w monocytach i limfocytach. CRP występuje w osoczu zdrowych osób; jego stężenie kształtuje się w granicach 0–10 mg/l, nie określono jednak dotychczas wartości granicznej ustalającej kategorycznie zakres normy i patologii. Ostry proces zapalny oraz nowotwory złośliwe powodują znaczny wzrost syntezy i wydzielania białka C-reaktywnego. Podwyższony poziom CRP obserwujemy w nowotworach złośliwych, takich jak rak piersi, przełyku, płuc czy jajnika.

W oparciu o dostępne piśmiennictwo krajowe i zagraniczne założono, że przeżycie ogólne jak i związane z guzem jest w dużej mierze zależne od wskaźników prognostycznych w raku nerki. Przyjęto założenie, że na wynik leczenia raka jasnokomórkowego nerki ma wpływ zaawansowanie guza, stopień złośliwości oraz jego wielkość w chwili postawienia rozpoznania. W związku z tymi założeniami postanowiono poddać analizie zmiany parametrów hematologicznych i biochemicznych krwi obwodowej po 6 dniach i 6 miesiącach od zabiegu w odniesieniu do wartości wyjściowych przed zabiegiem. Ponadto poddano ocenie wpływ poziomu morfologii oraz parametrów biochemicznych krwi obwodowej: LDH, żelaza, cholesterolu całkowitego, kreatyniny, CRP, IL-6 na przeżycia całkowite (OS) i związane z rakiem (CSS) u chorych z miejscowo zaawansowanym guzem poddanych radykalnej nefrektomii. Poddano również ocenie wartości IL-6 i CRP oraz badanych parametrów krwi obwodowej jako wskaźników rokowniczych w monitorowaniu przebiegu miejscowo zaawansowanego raka nerki. Celem również była ocena wartości prognostycznej parametrów histologicznych guza w odniesieniu do czasu przeżycia całkowitego (OS) i związanego z chorobą (CSS).

Analizie poddano 89 chorych 34 kobiety i 55 mężczyzn w wieku od 30 do 81 lat (średnia wieku 60,08 ± 9,99 lat) leczonych operacyjnie z powodu guza nerki w Klinice Urologii i Onkologii Urologicznej Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu w okresie od maja 2004 do lutego 2005r. Wszyscy pacjenci mieli rozpoznaną chorobę nowotworową nerki w badaniach obrazowych ultrasonografii (USG) i tomografii komputerowej (TK). Do grupy badanej wyselekcjonowano pacjentów z miejscowo-zaawansowaną chorobą (T1 do T3) bez zmian w węzłach chłonnych (N0), bez przerzutów odległych (M0). Chorym, którzy wyrazili zgodę na uczestnictwo w w/w badaniach dzień przed planowanym zabiegiem operacyjnym usunięcia raka nerki pobierano 10 ml krwi. Krew była następnie odwirowana w standardowych warunkach. Po odwirowaniu surowica była rozlewana po 1 ml do 10 probówek typu Eppendorf™ i następnie mrożona w temperaturze -20°C. Analogicznie podczas hospitalizacji w oddziale urologicznym w szóstej dobie po operacji nefrektomii oraz podczas wizyty kontrolnej 6 miesięcy po hospitalizacji przeprowadzano ponownie procedurę pozyskiwania surowicy.

Badania hematologiczne oraz biochemiczne: morfologię krwi obwodowej, oznaczenie poziomu żelaza, dehydrogenazy mleczanowej, cholesterolu całkowitego i poziomu kreatyniny wykonano wg. standardowej procedury laboratorium Szpitala Miejskiego im. J. Strusia w Poznaniu. Białko-C-reaktywne oznaczono metodą immunoelektroforezy rakietkowej. Ilościowy pomiar ludzkiej IL-6 wykonany został za pomocą techniki ELISA, przy użyciu kompletnego zestawu do oznaczeń firmy R&D.

Szczegółowej analizie poddano wartości badanych parametrów uzyskanych przed zabiegiem z podziałem na grupę pacjentów żyjących i tych którzy zmarli. Na podstawie otrzymanych wyników wykazano statystycznie istotne zależności parametrów przed badaniem między pacjentami którzy przeżyli i tymi co zmarli. Korelacje występowały w odniesieniu do: RBC p=0,0067, HGB p=0,0076, HCT =0,0024, Fe p= 0,0027, CRP p=0,0004, IL-6 p= 0,0010. Stwierdzono wyraźnie podwyższony CRP i IL-6 przed zabiegiem, u osób którzy zmarli w porównaniu z grupą pacjentów żyjących. Nie wykazano statystycznie istotnych korelacji w stosunku do poziomu płytek krwi obwodowej, dehydrogenazy mleczanowej, cholesterolu i kreatyniny.

Analizując wyniki otrzymane w 6 dobie po zabiegu z uwzględnieniem podziału na grupę pacjentów, którzy przeżyli i tych co zmarli, nie wykazano statystycznie istotnych różnic w zakresie badanych parametrów krwi obwodowej. Natomiast stwierdzono różnice pomiędzy grupą chorych, którzy przeżyli i tymi co zmarli a poziomem dehydrogenazy mleczanowej, przy istotności statystycznej na poziomie (p=0,0383) w 6 miesięcy po zabiegu. Pozostałe badane parametry krwi obwodowej nie wykazywały statystycznie istotnych różnic.

Oceniając przeżycia chorych na podstawie badań krwi przed zabiegiem operacyjnym określono korelację między poziomem morfologii, żelaza, CRP oraz IL-6 a ogólnym czasem przeżycia. W badanej grupie chorych wykazano również prawidłową zależność przeżycia w stosunku do zaawansowania klinicznego i stopnia złośliwości nowotworu.

Oceniając całkowite przeżycia chorych (OS) oraz przeżycia związane z rakiem nerki (CSS) wskazano na znamiennie dłuższe przeżycie chorych z

prawidłowymi wartościami erytrocytów, hemoglobiny, hematokrytu, płytek krwi, żelaza, CRP oraz IL-6 uzyskanymi przed usunięciem raka nerki w stosunku do ich wartości obniżonych. W przypadku erytrocytów, hemoglobiny hematokrytu i poziomu żelaza oraz wartości podwyższonych w przypadku IL-6, CRP i poziomu płytek krwi. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic przeżycia całkowitego w zależności od wartości parametrów laboratoryjnych w 6 dni oraz 6 miesięcy po zabiegu.

Uzyskane wyniki pozwoliły sformułować kolejne wnioski. Podwyższony poziom białka C-reaktywnego oraz IL-6 przed zabiegiem stanowi niekorzystny czynnik rokowniczy w odniesieniu do czasu całkowitego przeżycia i związanego z chorobą u chorych poddanych radykalnej nefrektomii z powodu jasnokomórkowego raka nerki. Podwyższony poziom wykładników niedokrwistości wyrażonych spadkiem hemoglobiny, hematokrytu, poziomu erytrocytów i żelaza we krwi obwodowej pacjentów przed operacją usunięcia guza nerki wskazywał na gorsze rokowanie co do przeżycia ogólnego (OS) jak i związanego z chorobą (CSS). Parametry hematologiczne ani biochemiczne krwi obwodowej oceniane 6 dni oraz 6 miesięcy po zabiegu operacyjnym nie miały żadnej wartości prognostycznej.

Spośród badanych parametrów obniżenie poziom hemoglobiny i żelaza oraz podwyższony poziom płytek krwi, IL–6 i CRP we krwi obwodowej pacjentów przed nefrektomią z powodu miejscowo zaawansowanego raka nerki mogą być wartościowymi wskaźnikami diagnostycznymi w późniejszej selekcji do terapii uzupełniającej. Stopień złośliwości histologicznej oraz stopień zaawansowania miejscowego guza nerki stanowiły niezależne czynniki rokownicze w odniesieniu do czasu przeżycia całkowitego i związanego z chorobą.

8. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM

Renal cell carcinoma (RCC) accounts for about 3-4% of malignant neoplasms in adults. In Poland in 2006 renal cell carcinomas were diagnosed in 2,283 men and 1,483 women. The number of deaths caused by the disease amounted to 1,558 in men and 884 in women. The reason for its development has not been fully explained. Similarly to other cancers, renal cell carcinoma results from disturbances on the genetic level. A range of environmental factors condition the occurrence of renal cell carcinoma.

Prognostic factors in renal cell carcinoma can be divide into anatomical, histological, clinical and molecular. Anatomical factors are commonly included in the TNM classification and at present are the most useful prognostic factor. Histological factors include the degree of cellular malignancy of the tumor, type of cancer tissue, presence of sarcoma structures, vascular infiltration, presence of tumor necrosis and infiltration into the renal collecting system. Clinical performance scales of a patient, which enable to assess the general condition and quality of life of a patient with cancer disease, are the most frequently used to assess a patient's clinical state. The clinical usefulness of many molecular factors in the prognostication of the course of renal cell carcinoma has been examined. The factors include also interleukin-6 (IL-6) and C-reactive protein (CRP).

Interleukin-6 is a cytokine from the family of hematoproteins. It is produced by T-lymphocytes, macrophages and monocytes, fibroblasts, hepatocytes and endothelium cells. The cytokine is released in response to inflammatory state, infection, shock and neoplastic process.

C-reactive protein is synthesized mainly by Browicz−Kupffer cells and by hepatocytes. Its expression is observed also in monocytes and lymphocytes. CRP occurs in blood plasma of healthy persons; its concentration ranges from 0-10 mg/l, however, so far its critical value definitely determining the normal and pathological range of CRP was not found. Acute inflammatory process and malignant neoplasms result in a considerable increase in the synthesis and excretion of C-reactive protein. Increased CRP level is observed in malignant tumors, such as breast, esophageal, lung or ovarian cancer.

On the basis of the available Polish and foreign literature it was assumed that overall survival (OS) and cancer-specific survival (CSS) depend largely on the prognostic indicators in renal cell carcinoma. Tumor advancement, degree of malignancy and size in the moment of diagnosis were assumed to have influence on the result of treatment of clear-cell renal cell carcinoma. In accordance with these assumptions, analyses of changes in hematological and biochemical indices of peripheral blood between serum samples collected six days and six months after the operation in comparison to that taken before the procedure was conducted. Additionally, the influence of complete blood count and biochemical parameters of peripheral blood, i.e. LDH, iron, total cholesterol, creatinine, CRP and IL-6, on overall survival (OS) and cancer-specific survival (CSS) was examined in patients with locally advanced tumor who underwent radical nephrectomy. Also the values of IL-6, CRP and the examined parameters of peripheral blood were assessed as prognostic indicators in monitoring of the course of locally advanced renal cell carcinoma.

The analysis included 89 patients – 34 women and 55 men, aged from 30 to 81 years (mean age 60.08 ± 9.99 years), who were surgically treated for renal cell carcinoma in the Clinic of Urology and Urologic Oncology of the Poznań University of Medical Sciences from May 2004 to February 2005. All the patients had renal cell carcinoma diagnosed by ultrasonographic examination (USG) and computed tomography (TK). The examined group included patients with locally advanced disease (from T1 to T3), with no changes in lymph nodes (N0), with no remote metastases (M0). From the patients that agreed to participate in the present study, 10 ml blood was collected before the planned operation of renal cell carcinoma excision. Then the blood was centrifuged under standard conditions. After centrifugation, blood serum was poured into 10 Eppendorf™ tubes (1 ml to each) and then frozen at -20°C. The procedure of serum collection was applied in a similar way during hospitalization in the urologic department on the sixth day after nephrectomy operation and during a follow-up visit 6 months after hospitalization.

Hematological and biochemical tests: complete blood count of peripheral blood, determination of the level of iron, lactate dehydrogenase, total cholesterol and creatinine, were performed according to the standard procedure

used in the laboratory of the Józef Struś General Municipal Hospital in Poznań. C-reactive protein was assessed using the rocket immunoelectrophoresis method. Quantitative analysis of human IL-6 was conducted with the use of the ELISA technique with a complete analysis set (R&D).

The values of the examined parameters obtained before the operation with a division into living and deceased patients were thoroughly analyzed. The analysis showed statistically significant relationships between the parameters assessed before the operation in the survived and deceased patients. Correlations were found for: RBC ($p=0.0067$), HGB ($p=0.0076$), HCT ($p=0.0024$), Fe ($p=0.0027$), CRP ($p=0.0004$), and IL-6 ($p=0.0010$). Significantly elevated CRP and IL-6 levels before the operation were observed in the deceased patients in comparison with the living patients. No statistically significant correlations as to the level of platelets in peripheral blood, lactate dehydrogenase, cholesterol and creatinine were found.

The analysis of the results obtained on the 6th day after the operation, taking into consideration the division into survived and deceased patients, did not show any statistically significant differences between the examined parameters of peripheral blood. However, differences were found between the groups of survived and deceased patients and the level of lactate dehydrogenase 6 months after the operation with statistical significance $p=0.0383$. The other examined peripheral blood parameters showed no statistically significant differences.

The assessment of patients' survival on the basis of blood tests before the operation included determination of correlations between complete blood count, the level of iron, CRP and IL-6 and total survival time. In the examined group of patients also a proper relationship between patient survival and tumor clinical advancement and degree of malignancy was demonstrated.

The examination of patients' overall survival (OS) and cancer-specific survival (CSS) demonstrated significantly longer survival of the patients with normal levels of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, platelets, iron, CRP and IL-6 before renal cell carcinoma excision in comparison with their decreased levels. In the case of a decreased level of erythrocytes, hemoglobin, hematocrit,

iron level and an elevated level of IL-6, CRP and platelet level, no statistically significant differences were found in patients' overall survival when compared to the respective values of the laboratory parameters 6 days and 6 months after the operation.

The obtained results enabled to draw another conclusions. Higher concentrations of C-reactive protein and IL-6 before the operation of renal cell carcinoma excision because of the cancer indicated a worse prognosis on overall survival and cancer-specific survival. Elevated levels of anemia indicators expressed as a decrease in hemoglobin, hematocrit, the level of erythrocytes and iron in peripheral blood of the patients before the operation of renal cell carcinoma excision indicated a worse prognosis on overall survival (OS) and cancer-specific survival (CSS). Hematological and biochemical indices of peripheral blood of serum samples collected six days and six months after the operation had no value as prognostic indicators.

Among the examined parameters, decreased levels of hemoglobin and iron and elevated levels of platelets, IL-6 and CRP in peripheral blood of patients before nephrectomy due to locally advanced renal cell carcinoma may be valuable diagnostic indicators in the later selection for complementary therapy. Tumor advancement and degree of malignancy in the moment of diagnosis were assumed to have independent prognostic value for OS and CSS.

9. SPIS TABEL

I. Rekomendacje EAU dla leczenia systemowego pierwszego i drugiego rzutu w rozsianym raku nerki.
II. Występowanie raka jasnokomórkowego nerki dla całej grupy badanej oraz z podziałem na pacjentów żyjących i tych którzy nie przeżyli.
III. Występowanie raka jasnokomórkowego nerki w zależności od lokalizacji guza.
IV. Klasyfikacji stopnia złośliwości nowotworu wg UICC z 2002r (TNM).
V. Charakterystyka stopnia złośliwości nowotworu Fuhrmana (G) w grupie objętej badaniem.
VI. Wielkość guza (w centymetrach) w poszczególnych grupach badanych.
VII. Rozcieńczenia standardów i próbek badanych przy oznaczaniu CRP.
VIII. Badania laboratoryjne wykonane w dzień przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.
IX. Wartości parametrów morfologii krwi obwodowej oraz wybranych biochemicznych wskaźników wykonane przed zabiegiem u pacjentów żyjących i tych, którzy zmarli.
X. Stężenie CRP i IL-6 u badanych pacjentów.
XI. Czas przeżycia zależny od stopnia złośliwości G wg. Fuhrmana.
XII. Czas przeżycia zależny od stopnia T skali TNM.

10. SPIS RYCIN

1. Guz nerki w stopniu T1 do 7cm Ø (A) i w stopniu T2 >7cm Ø (B).
2. Guz nerki w stopniu T3b (A) i T3c (B).
3. Guz w stopniu T4 naciek poza powięź Geroty (A) naciek na nadnercze (B).
4. Wartości leukocytów oznaczane przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesiącu po zabiegu.
5. Wartości erytrocytów przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu w badanej grupie pacjentów.
6. Wartości hemoglobiny przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.
7. Wartości hematokrytu oznaczonego we krwi obwodowej przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu.
8. Wartości płytek krwi obwodowej przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.
9. Wartości dehydrogenazy mleczanowej przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.
10. Wartości żelaza przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.
11. Wartości cholesterolu przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.
12. Wartości kreatyniny przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu i 6 miesięcy po zabiegu.
13. Różnice pomiędzy grupą pacjentów którzy przeżyli i tymi co nie przeżyli a wskaźnikiem LDH oznaczonym 6 miesięcy po zabiegu.
14. Wartości CRP u chorych poddanych nefrektomii oznaczone przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu.
15. interleukiny 6 u chorych poddanych nefrektomii oznaczone przed zabiegiem, w 6 dobie po zabiegu oraz 6 miesięcy po zabiegu.
16. Korelacje pomiędzy poziomem leukocytów przed zabiegiem a czasem przeżycia.
17. Korelacje pomiędzy poziomem erytrocytów przed zabiegiem a czasem przeżycia.

18. Korelacje pomiędzy poziomem hemoglobiny przed zabiegiem a czasem przeżycia.
19. Korelacja pomiędzy poziomem hematokrytu przed zabiegiem a czasem przeżycia.
20. Korelacja pomiędzy poziomem płytek krwi przd zabiegiem a czasem przeżycia.
21. . Korelacja pomiędzy poziomem żelaza przed zabiegiem a czasem przeżycia.
22. Korelacja pomiędzy wartością białka C-reaktywnego przed zabiegiem operacyjnym a czasem przeżycia.
23. Korelacja pomiędzy poziomem Interleukiny 6 przed zabiegiem operacyjnym a czasem przeżycia.
24. Korelacja stężenia IL-6 oznaczanej 6 miesięcy po zabiegu a czasem przeżycia pacjentów po nefrektomii.
25. Korelacja miedzy stopniem złośliwości G a czasem przeżycia.
26. Korelacje między stopniem zaawansowania T a czasem przeżycia.
27. Korelacja wielkości guza (w centymetrach) z czasem przeżycia.
28. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości hemoglobiny przed zabiegiem.
29. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości żelaza przed zabiegiem.
30. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości żelaza przed zabiegiem.
31. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości interleukiny 6.
32. Analiza Kaplana-Meiera prawdopodobieństwa przeżycia w odniesieniu do wartości białka C-reaktywnego.
33. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy czasem przeżycia (miesiące) a prawdopodobieństwem przeżycia w odniesieniu do badanych parametrów. A–hemoglobina, B–płytki krwi, C–krwinki białe, D–krwinki czerwone, E–Cholesterol, F–Kreatynina, G–CRP, H–IL6.
34. (A,B,C)Analiza Kaplana-Meiera czasu przeżycia w zależności od stopnia złośliwości komórkowej według .Fuhrmana.

35. Analiza Kaplana-Meiera czasu przeżycia w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego T.
36. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami hemoglobiny.
37. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami płytek krwi obwodowe.
38. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami żelaza.
39. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami CRP.
40. Analiza Kaplana-Meiera pomiędzy przeżyciem związanym z rakiem nerki a wartościami IL-6.
41. Analiza stopnia zaawansowania guza T a prawdopodobieństwem przeżycia związanym z rakiem nerki.
42. Analiza stopnia złośliwości komórkowej guza G a prawdopodobieństwem przeżycia związanym z rakiem nerki.
43. Krzywa ROC w odniesieniu do CRP przed zabiegiem.
44. Krzywa ROC w odniesieniu do IL-6 przed zabiegiem.
45. Krzywa ROC w odniesieniu do erytrocytów (RBC) przed zabiegiem.
46. Krzywa ROC w odniesieniu do hemoglobiny (HGB) przed zabiegiem.
47. Krzywa ROC w odniesieniu do hematokrytu (HCT) przed zabiegiem.
48. Krzywa ROC dla dehydrogenazy mleczanowej (LDH) u chorych 6 miesięcy po zabiegu operacyjnym.
49. Krzywa ROC w zależności od wielkości guza.
50. Krzywa ROC w zależności od stopnia złośliwości komórkowej (G) według Fuhrmana.
51. Krzywa ROC w zależności od zaawansowania stopnia klinicznego T.

11. PIŚMIENNICTWO

1. Wojciechowska U, Didkowska J, Zatoński W.: Nowotwory złośliwe w Polsce w 2006r. Warszawa 2008
2. Ho-Chow W, Devesa SS, Warren JL, et al.: Rising incidence of renal cell cancer in the United States. JAMA, 281 (17):1628, 1999
3. Hajj P, Ferlicot S, Massoud W, et. al.: Prevalance of renal cell carcinoma in patient with autosomal dominant polycystic kidney disease and chronic renal failure. Urology 2010; 75(3): 752-753
4. Ishikawa I, Shikura N, Kitada H, et al.: Ten-year prospective study of the development of renal cell carcinoma in dialysis patient. Am. J. Kidney Dis, 1990; 16: 452 – 458
5. Neumann HPH, Bender BU, Berger DP, et. al.: Prevalence, morphology and biology of renal cell carcinoma in von Hoppel-Lindau disease compared to sporadic renal cell carcinoma. J.Urol 1998; 160 (4): 1248-1254
6. Bernstein J, Evan P, Gardner KD: Epithelial hyperplasia in human polycystic kidney diseases. Am. J. Pathol 1987; 129 (1): 92-101
7. Elis WJ.: Epidemiology and etiology of renal cell carcinoma. W: Principles and practice of genitourinary oncology . Red.:Raghavan D., Scher H.I., Leibel S.A., Lange eds. Lippincott-Raven, Philadelphia, Pennsylvania, 1997
8. Gregoire JR, Torres VE, Holley KE, et al.: Renal epithelial hyperplastic and neoplastic proliferation in autosomal dominant polycystic kidney disease. Am. J. Kidney Dos 1987; 9 (1): 27-38
9. Franklin JR, Figlin R, Belldegrun A,: Renal cell carcinoma: basic biology and clinical behavior. Semin. Urol. Oncol 1996; 14(4): 208-215
10. Vogelzang NJ, Stadler WM.: Kidney cancer Lancet. 1998 Nov 21;352(9141): 1691-6. Review.
11. Belldegrun A, deKernion JB,: Renal tumors. W: Campbell's urology. Red.: Walsh P.C., Saunders Company, 1998; t. III: 2283 – 2326
12. Yu MC, Mack TM, Hanisch R. et al.: Cigarette smoking, obesity, diuretic use, and coffee consumption as a risk factors for renal cell carcinoma. J. Natl. Cancer Inst., 1986; 77, 2: 351 – 356

13. Godley PA, Stinchcombe TE,: Renal cell carcinoma. Curr Opin Oncol 1999; 11 (3): 213-217
14. Vogelzang NJ, Yang X, Goldman S. et al.: Radiation induced renal cell cancer: a report of 4 cases and review of the literature. J. Urol, 1993; 160, 6: 1987 – 1990
15. Bretan PN, Jr. Busch MP, Hricak H, et. al.: Chronic renal failure: a significant risk factor in the development of acquired renal cysts and renal cell carcinoma. Cancer 1986; 57: 1871 – 1879
16. Poston CD, Jaffe GS, Lubensky IA, et al: Characterization of the renal pathology of a familial form of renal cell carcinoma associated with von Hippel-Lindau disease: clinical and molecular genetic implications. J Urol. 1995 Jan;153(1):22-6
17. Sobin LH, Gospodariwicz M, Wittekind C. et al.: TNM classification of malignant tumors. UICC International Union Against Cancer. 7th edn. Wiley-Blackwell, 2009: pp. 255-257
18. Robson CJ, Churchill BM., Anderson W.: The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. J. Urol, 1969; 101: 297
19. Han KR, Bui MH, Pantuck AJ, et. al.: TNM T3a renal cell carcinoma: adrenal gland involvement is not the same as renal fat invasion. J Urol 2003; 169(3): 899-903; discussion 903-4
20. Thompson RH, Leibovich BC, Cheville JC. et al.: Should direct ipsilateral adrenal invasion from renal cell carcinoma be classified as pT3a? J Urol 2005 Mar;173(3):918-21
21. Dinney CP, Awad SA, Gajewski JB, et al.: Analysis of imaging modalities, staging systems, and prognostic indicators for renal cell carcinoma. Urology. 1992 Feb;39(2):122-9
22. Ficarra V, Galfano A, Novella G, et al.: Application of TNM, 2002 version, in localized renal cell carcinoma: is it able to predict different cancer-specific survival probability? 2003;56: 256-59
23. Ficarra V, Artibani W.: Staging system of renal cell carcinoma: current issues. Eur Urol 2006; 49: 223–5
24. Kim HL, Zisman A, Ken-Ryu H, et. al.: Prognostic Significance of Venous Thrombus in Renal Cell Carcinoma. Are Renal Vein and Inferior Vena Cava Involvement Different? The Journal of Urology 2004;172: 588-591

25. Mukamel E, Konichezky M, Engelstein D.: Incidental small renal tumors accompanying clinically overt renal cell carcinoma. J Urol 1988;140:22-24
26. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C.: Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. Am J Surg Pathol 1982;6:655-663
27. Hermanek P, Sigel A, Chelpas S.: Histologic grading of renal cell carcinoma. Eur Urol 1976;2:189-191
28. Rioux-Leclercq N, Karakiewicz PI, Trinh QD. et al.: Prognostic ability of simplified nuclear grading of renal cell carcinoma. Cancer 2007 Mar;109(5):868-74
29. Bretheau D, Lechevallier E, de Fromont M, et. al.:Prognostic value of nuclear grade of renal cell carcinoma. Cancer. 1995; 76: 2543–2549
30. Selli C, Hinshaw WM, Woodard BH, et al: Stratification of risk factors in renal cell carcinoma. Cancer. 1983 Sep 1;52(5):899-903
31. Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, et al: Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. Am J Surg Pathol 2003;27:612–624
32. Patard JJ, Leray E, Rioux-Leclercq N, et. al.: Prognostic value of histological subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. J Clin Oncol 2005; 23(12): 2763-71
33. Delahunt B, Eble JN, McCredie MR, et.al.: Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. Hum Pathol 2001;32(6): 590-595
34. Karnofsky DA, Burchenal JH. (1949). "The Clinical Evaluation of Chemotherapeutic Agents in Cancer." In: MacLeod CM (Ed), Evaluation of Chemotherapeutic Agents. Columbia Univ Press. Page 196
35. Oken MM, Creech RH, Tormey DC, et al.:Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. Am. J. Clin. Oncol.1982; 5 (6): 649–55
36. Li G, Feng G, Gentil-Perret A, et. al.: Serum carbonic anhydrase 9 level is associated with postoperative recurrence of conventional renal cell cancer. J Urol 2008;180(2): 510-3; discussion 513-4
37. Sabatino M, Kim-Schulze S, Panelli MC. et al.: Serum vascular endothelial growth factor and fibronectin predict clinical response to high-dose interleukin-2 therapy. J Clin Oncol 2009 Jun;27(16):2645-52

38. Zhao H, Ljungberg B, Grankvist K. et al.: Gene expression profiling predicts survival in conventional renal cell carcinoma. PLoS Med 2006 Jan;3(1):e13
39. Fernandez-Botran R, Wynn TA, Hieny S, et al.: Linked in vivo expression of soluble interleukin-4 receptor and interleukin-4 in murine schistosomiasis. Eur J Immunol, 1995; 25(3): 649-56
40. Hirano T. Kishimoto In: M.B. Sporn and A.B. Roberts, Editors, Handbook of Experimental Pharmacology, Peptide Growth Factors and Their Receptors, Springer-Verlag, Berlin 1989
41. Nakajima K, Matsuda T, Fujitani Y, et. al.: Signal transduction through IL-6 receptor: involvment of multiple protein kinases, stat factors and novel H7 sensitive pathways. Ann NY Acad. Sci 1995; 762: 55-70
42. Abbas AK, Lichtmen AH, Pober JS.: Cellular and molecular immunology. W.B. Saunders company, Toronto 1997
43. Mackinnon LT.: Advances in exercise immunology. human kinetics, champaign, 1999
44. Roitt IM.: Essential Immunology. Blackwell Scientific Publications, 1991
45. Pepys MB.: C−reactive protein fifty years on. Lancet, 1981;317: 653–657
46. Buess T, Ludwig C,: Diagnostische Wertigeit des C−reaktiven Proteins im Vergleich zur Senkungsreaktion als Eintrittsroutine−Kongressbeitrag. Schweiz. Med. Wochenschr, 1995; 125: 120–124
47. Marton IJ, Kiss C.: Influence of surgical treatment of periapical lesions on serum and blood levels of inflammatory mediators. Int. Endod. J 1992; 25: 229–233
48. Nakayama T, Sonoda S, Urano T, et. al.: Monitoring both serum amyloid protein A and C−reactive protein as inflammatory markers in infections diseases. Clin. Chem, 1993; 39: 293–297
49. Pajdak W.: Białko C−reaktywne w diagnostyce klinicznej. Diag. Lab 1987; 23: 253–257
50. Sibraa PD, Reinhardt RA, Dyer JK. et al.: Acute−phase protein detestion and quantification in gingival cervicular fluid by direct and indirect immunodot. J. Clin. Periodontol 1991; 18: 101–106

51. Gauldie J, Richards C, Harnish D, et.al.: Interferon beta2/B cells stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte−derived hepatocyte – stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1987; 84: 7251–7255
52. Koj A.: Reakcja ostrej fazy i klasyfikacja białek ostrej fazy. Diag. Lab 1985; 21, 262–266
53. Baumann H, Gauldie J,: The acute phase response. Immunol. Today 1994; 15: 74–80
54. Kruger M, Schrold W, Lindner A, et. al.: C−reactives Protein (CRP)−ein Akute−Phase−Protein mit labormedizinischer Bedeutung in der Veterinarmedizin. Tierarztl. Prax 1995; 23: 236–240
55. Mi LZ, Wang HW, Sui SF.: Interaction of rabbit C−reactive protein with phospholipid monolayers studied by microfluorescence film balance with an externally applied electric fiel. Biophys. J. 1997; 73: 446–451
56. Mold C, Gurule C, Otero D, et. al.: Complement−depended binding of C−reactive protein complexes to human erythrocyte CR1. Clin. Immunol. Immunopathol, 1996; 81: 153–160
57. Muller H, Fehr J.: Binding of C−reactive protein to human polymorphonuclear leukocytes: evidence for association of binding sites with Fc receptors. J. Immunol. 1986; 136: 2202–2207
58. Claus DR, Osmand AP, Gewurz H.: Radioimmunoassay of human C−reactive protein and levels in normal sera. J. Lab. Clin. Med 1976; 87: 120–127
59. Kato K, Hitsuda Y, Kawasaki Y, et. al.: The value of serum C−reactive protein as a survival determinant in patients with advanced non−small−cell lung cancer, 2000; 38: 575–580
60. Kodama J, Miyagi Y, Seki N, et al.: Serum C−reactive protein as a prognostic factor in patients with epithelial ovarian cancer. Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol, 1999; 82: 107–110
61. Nozoe T, Saeki H, Sugimachi K.: Significance of preoperative elevation of serum C−reactive protein as an indicator of prognosis in esophageal carcinoma. Am. J. Surg 2001; 182: 197–201
62. Nozoe T, Korenaga D, Futatsugi M, et. al.: Immunohistochemical expression of C−reactive protein in squamous cell carcinoma of the

esophagus – significance as a tumor marker. Cancer Lett, 2003; 192: 89–95

63. Shimada H, Nabeya Y, Okazumi S. et al.: Elevation of preoperative serum C−reactive protein level is related to poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. J. Surg. Oncol 2003; 83: 248–252
64. Zakrzewska I, Kozłowski L, Wojtukiewicz M.: Ocena zmian stężeń interleukiny 6 i białka C−reaktywnego u chorych na nowotwory piersi. Pol. Merk. Lek, 2003; 86: 115–117
65. El Hassan BS, Peak JD, Whicher JT, et. al.: Acute phase protein levels as an index of severity of physical injury. Int. J. Oral Maxillofac. Surg, 1990; 19: 346–349
66. Hogevik H, Olaison L. , Andersson R, et al.: C−reactive protein is more sensitive than erythrocyte sedimentation rate for diagnosis of infective endocarditis. Infection, 1997; 25: 82–85
67. Szalai AJ, Agrawal A, Greenhough TJ. et al.: C−reactive protein: structural biology, geneexpression, and host defense function. Immunol. Res., 1997; 16: 127–136
68. Heegaard NHH, Robey FA.: A capillary electrophoresis−based assay for the binding of Ca+ and phosphorylcholine to human C−reactive protein. J. Immunol. Meth, 1993; 166: 103–110
69. Steiner A, Vetter W.: C−reactive Protein oder Blutsenkungsreaktion als Vorsorgeuntersuchung im Arztlabor? Ther. Umsch., 1995; 52: 350–353
70. Agrawal A, Xu Y, Ansardi D, et. al.: Probing the phosphorylcholine−binding site of human C−reactive protein by site−directed mutagenesis. J. Biol. Chem. 1992; 267: 252–253
71. Agrawal A, Lee S, Carson M, et. al.: Site−directed mutagenesis of the phosphocholine−binding site of human C−reactive protein: role of Thr76 and Trp67. J. Immunol, 1997; 158: 345–350
72. Anderson JK, Stroud RM, Volanakis JE: Studies on the binding specifity of human C−reactive protein for phosphorylcholine. Fed. Proc 1978; 1495: 37
73. Bloomer AC, Greenhough TJ.: Three dimensional structure of human C−reactive protein. Nat. Struct. Biol. 1996; 3: 346–354

74. Culley FR, Harris RA, Kaye PM, et. al.: C−reactive protein binds to a novel ligand on Leishmania donovani and increases uptake into human macrophages. J. Immuno,. 1996; 156: 4691–4696
75. Koj A.: Biologiczne funkcje białek ostrej fazy. Diag. Lab 1987; 23: 191–203
76. Mackiewicz A.: Badanie mechanizmów regulujących glikozylację białek ostrej fazy. Immun. Pol 1989; 14: 103–127
77. Mackiewicz A.: Badanie mechanizmów regulujących glikozylację białek ostrej fazy. Immun. Pol. 1990; 15: 47–64
78. Gewurz H, Mold C, Siegal J, et. al.: C−reactive protein and the acute phase response. Adv. Intern. Med. 1982; 27: 345–372
79. Dahler−Eriksen BS, Lassen JF, Lund ED et.al.: C−reactive protein in general practice – how commonly is it used and why? Scand. J. Prim. Health Care, 1997; 15: 35–38
80. Du Clos TW.: The interaction of C−reactive protein and serum amyloid P component with nuclear antigens. Mol. Biol. Rep. 1996; 23: 253–260
81. Wolbink GJ, Brouwer MC, Buysmann S. et al.: CRP−mediated activation of complement in vivo: assessment by measuring complement−C−reactive protein complexes. J. Immunol., 1996; 157: 473
82. Robson CJ.: Radical nephrectomy for renal cell carcinoma. J. Urol, 1963; 89: 37
83. Gibbons RP, Montie JE, Correa RJ, et al.: Manifestation of renal cell carcinoma. Urology, 1976; 68: 201-206
84. Ciszanowski A, Pruszyński B.: Radiologia (red.) B. Pruszyński. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa, 1999; 314-334
85. Albarran J, Imbert L:” les tumeurs du rein” Paris, Masson 1903,359-410
86. Borkowski A, Czaplicki M,: Nowotwory i torbiele nerek. Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 2002; 240-244
87. Choyke PL: Detection and staging of renal cancer. MRI Clin. North. Am, 1997; 5(1): 29-47
88. Gerspach JM, Schulam PG,: AUA Update Series – Zabiegi laparoskopowe na górnych drogach moczowych,1993; t.XVI lekcja 19
89. Fornara P, Doehn C, Seyfarth M, et al.: Why is urological laparoscopy minimally invasive? Eur Urol. 2000 Mar;37(3):241-50

90. Vermooten V. „Indications for conservative burgery In certain renal tumors: a study based on the growth pattern of the clear cell carcinoma” J Urol 1950, 64:200
91. Gill IS, Kavoussi LR, Lane BR, et al.: Comparison of 1,800 laparoscopic and open partial nephrectomies for single renal tumors. J Urol 2007; 178(1): 41-6
92. Marszalek M, Meixl H, Polajnar M, et. al.: Laparoscopic and open partial nephrectomy: a matched-pair comparison of 200 patients. Eur Urol 2009; 55: 1171-1178
93. Peycelon M, Hupertan V, Comperat E, et. al.: Long-term outcomes after nephron sparing surgery for renal cell carcinoma larger than 4 cm. J Urol 2009;181(1):35-41
94. Raz O, Mendlovic S, Shilo Y. et al.: Positive surgical margins with renal cell carcinoma have a limited influence on long-term oncological outcomes of nephron sparing surgery. Urology. 2010 Feb;75(2):281
95. Gill IS, Focal therapy for kidney and prostate cancer. Curr Opin Urol. 2009;19(2):125-6
96. Perry K, Zisman A, Pantuck AJ.: Laparoscopic and percutaneous ablative techniques in the treatment of renal cell carcinoma. Rev Urol. Summer 2002; 4(3): 103-11
97. Patel VR, Leveilee RJ, Hoey MF, et. al.: Radiofrequency ablation of the rabbit kidney using the liquid electrode – subacute observations. J. Urol. 2002
98. Mukund A, Gamanagatti S.: Ethanol ablation of renal cell carcinoma for palliation of symptoms in advanced disease. J Palliat Med. 2010 Feb;13(2):117-20
99. Kwias Z, Strzyżowski J, Sokołowski W,: Obserwacje kliniczne po embolizacji w nowotworach nerek i pęcherza moczowego Urologia Polska 1987; 40: 3
100. Zieliński J, Leńko J, Bożek J.: Klinika nowotworów narządów układu moczowo-płciowego. W: Urologia. Red.: Zieliński J., Leńko J., tom II: Urologia Kliniczna, Wyd. Lek. PZWL, Warszawa 1993; 382-500

101. May M, Brookman-Amissah S, Pflanz S, et al.: Pre-operative renal arterial embolisation does not provide survival benefit in patients with radical nephrectomy for renal cell carcinoma. Br J Radiol. 2009; 82(981): 724-31

102. Nabil M, Gruber T, Yakoub D, et. al.: Repetitive transarterial chemoembolization (TACE) of liver metastases from renal cell carcinoma: local control and survival results. Eur Radiol. 2008 Jul;18(7):1456-63

103. Ljungberg B, Landberg G, Alamdari FI.: Factors of importance for prediction of survival in patients with metastatic renal cell carcinoma, treated with or without nephrectomy. Scand J Urol Nephrol 2000; 34(4): 246-51

104. van der Poel HG, Roukema JA, Horenblas S, et al. Metastasectomy in renal cellcarcinoma: A multicenter retrospective analysis. Eur Urol 1999;35(3):197-203

105. Nazar J, Szulc A, Kwias Z, et. al.: Operacyjne leczenie przerzutów z raka nerki do kości - zastosowanie endoprotez ortopedycznych.- Urol. Pol. 2002; 55 (supl. 2A): 61

106. Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, et. al.: Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. J Urol 2004; 171(3): 1071-6

107. Kjaer M, Fredriksen PL, Engelholm SA,: Postoperative radiotherapy in stage II and III renal adenocarcinoma. A randomized trial by the Copenhagen Renal Cancer Study Group. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1987; 13: 665-72

108. Novick AC, Campbell SC.: Renal tumours. in: Walsh PC, Retik, AB, Vaughan ED, Wein AJ, eds.Campbell's Urology. Philadelphia: WB Saunders, 2002; pp. 2672-2731

109. DeVita VT.: Principles and practice of Oncology,Lippincott Willians &Wilkins 2005

110. Marshall ME, Mendelsohn L, Butler K, et. al.: Treatment of metastatic renal cell carcinoma with coumarin (1,2 benzopyrone) and cimetidine: a pilot study. J. Clin. Oncol 1987; 6: 682

111. Bower M, Ma R, Savage P, et.al.: British Urological Surgery Practice: 2. Renal, bladder and testis cancer. Brit. J. Urol 1998; 81: 513-517

112. DiBiase SJ, Valicenti RK, Schultz D, et.al.: Palliative irradiation for focally symptomatic metastatic renal cell carcinoma: support for dose escalation based on a biological model. J. Urol 1997;158 (3): 746-749
113. Yagoda A, Abi-Rached B, Petrylak D.: Chemotherapy for advanced renal cell carcinoma: 1983-1993. Semin. Oncol, 1995; 22: 42
114. Fyfe G, Fisher RI, Rosenberg SA, et. al.: Results of treatment of 255 patients with metastatic renal cell carcinoma who received high-dose recombinant interleukin-2 therapy. J Clin Oncol 1995; 13(3): 688-96
115. Rosenberg SA., Lotze MT., Yang JC. et al.: Prospective randomized trial of high-dose interleukin-2 alone or in conjunction with lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with advanced cancer. J Natl Cancer Inst, 1993; 21(85): 622-32
116. Coppin C, Porzsolt F, Awa A, et. al.: Immunotherapy for advanced renal cell cancer. Cochrane Database Syst Rev :CD001425, 2005
117. Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, et. al.: Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. J Clin Oncol, 2002; 20(1): 289-96
118. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, et.al.: AVOREN Trial investigators. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. Lancet 2007; 370(9605): 2103-11
119. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, et al.: Global ARCC Trial. Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. N Engl J Med 2007; 356(22): 2271-81
120. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, et. al.: Sunitinib versus interferon alfa In metastatic renal-cell carcinoma. N Engl J Med, 2007; 356(2): 115-24
121. Hannien EL, Kirchner A, Atzpodien J.: Interleukin-2 based home therapy of metastatic renal cell carcinoma: risks and benefits in 215 consecutive single institution patients. J. Urol 1996; 155 (1): 19-25
122. Motzer RJ, Michaelson MD, Redman BG, et. al.: Activity of SU11248, a multitargeted inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor, in patients with metastatic renal cell carcinoma. J Clin Oncol 2006; 24(1): 16-24

123. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, et. al.: TARGET Study Group. Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. N Engl J Med, 2007; 356(2): 125-34
124. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, et.al.: Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. Lancet, 2007; 370(9605): 2103-11 features among histological subtypes of renal cell carcinoma. Am J Surg Pathol 2003; 27(5): 612-24
125. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, et.al.: RECORD-1 Study Group. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebocontrolled phase III trial. Lancet 2008; 372(9637): 449-56
126. Ljungberg B, Hanbury DC, Kuczyk MA, et al.: EAU guidelines. Guidelines on renal cell carcinoma 2009; 22
127. Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, et. al.: A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. J Urol. 2001;166: 63-67
128. Zisman A, Pantuck AJ, Dorey F. et al.: Mathematical model to predict individual survival for patients with renal cell carcinoma. J Clin Oncol 2002, 20: 1368-1374
129. Frank I, Blute ML, Chawille J, et al.: An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. J. Urol. 2002; 168: 2395-2400
130. Greene FL, Page DL, Fleming ID, et al.: eds, AJCC Cancer Staging Manual, 6th edn. New York: Springer-Verlag, 2002
131. Ljungberg B.: Prognostic markers In renal cell carcinoma. Curr Opin Urol.2007; 17: 303-308
132. Ramsey SL, Lamb GW, Aitchison M, et. al.: Prospective study of the relationship between the systemie inflammatory response, prognostic scoring systems and relapse-free and cancer-specific survival in patient undergoing potentially curative resection for renal cancer. BJU Int. 2008; 101: 959-963
133. Delahunt B, Kittelson JM, McCredie MR, et. al.: Prognostic importance of tumor size for localized conventional (clear cell) renal cell carcinoma:

assessment of TNM T1 and T2 tumor categories and comparison with other prognostic parameters. Cancer 2002; 94: 658-664

134. Lau WK, Cheville JC, Blute ML, et. al.: Prognostic features of pathologic stage T1 renal cell carcinoma after radical nephrectomy. Urology 2002; 59: 532-537
135. Minervini R, Minervini A, Fontana N, et. al.: Evalution of the 1997 tumour, nodes and metastases classification of renal cell carcinoma: experience in 172 patients. BJU Int 2000; 86: 199-202
136. Moch H, Gasser T, Amin MB, et. al.: Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors. Cancer 2000; 89: 604-614
137. Lee SE, Buyn SS, Oh JK, et. al.: Significance of macroscopic tumor necrosis as prognostic indicato for renal cell carcinoma. J.Urol. 2006; 176: 1332-1338
138. Motzer RJ, Mazumdar M, Bacik J, et. al.: Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma.J Clin Onkol 1999;17: 2530-2540
139. Tsui KH, Shvarts O, Smith RB. et al.: Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients Rusing the revised 1997 TNM staging criteria. J.Urol.163:1090-1095
140. Lee CT, Katz J, Fearn PA, et al.: Mode of presentation of renal cell carcinoma provides prognostic information. Urol Oncol. 2002 Jul-Aug;7(4):135-40
141. Na X, Wu G, Ran CK, et. al.: Overproduction of vasculary endothelial growth factor related to von Hippel-Lindau tumor suppressor gene mutations and hypoxia-inducible factor 1alpha expression in renal cell carcinomas. J Urol. 2003;170: 588-592
142. Bui MH, Visappa H, Seligson D, et al.: Prognostic value of carbonic anhydrase IX and Ki67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. J Urol. 2004; 171: 2461-2466
143. Leibovich BC, Sheinin Y, Lohse CM, et. al.: Carbonic anhydrase IX is not an independent predictor of outcome for patients with clear cell renal cell carcinoma J Clin Oncol. 2007; 25: 4757-4764

144. Sorbellini M, Kattan MW, Snyder ME. et al.: A postoperative prognostic nomogram predicting recurrence for patients with conventional clear cell renal cell carcinoma. J Urol. 2005; 173:48-51
145. Lamb GW, McMillan DC, Ramsey S, et. al.: The relationship between the pre-operative systemic inflammatory response and cancer specific survival in patients undergoing potentially curative resection for renal clear cell cancer. Br J Cancer 2006; 94: 781-4
146. Lamb G, McArdle P, Ramsey S, et. al.: The relationship between the local and systemie inflammatory responses and survival In patients undergoing resection for localized renal cancer. BJUI Inter 2008; 102 (6): 756-761
147. Masuda H, Kurita Y, Fukuta K, et. al.: Significant prognostic factors for 5-year survival after curative resection of renal cell carcinoma. Int J Urol 1998; 5, 418-22
148. Komai Y, Saito K, Sakai K, et. al.: Increased preoperative serum C-reactive protein level predicts poor prognostic in patients with localized renal cell carcinoma BJU Int 2007; 99: 77-80
149. Fujukawa K, Matsui Y, Oka H, et. al.: Serum C-reactive protein level and the inpact of cytoreductive burgery In patient with metastatic renal cell carcinoma. J. Urol. 1999; 162: 1934-1937
150. Karakiewicz P, Hutterer G, Trinh Q, et. al.: C-reactive protein is an informative predictor of renal cell carcinoma- specific mortality. Cancer 2007; 110(6): 1241-1247
151. Nielsen OH, Vainer B, Madsen SM, et al.: Established and emerging biological activity markers of inflammatory bowel disease. Am. J. Gastroenterol 2000;95: 359-367
152. McMillan DC, Canna K, McArdle CS.: Systemic inflammatory response predicts survival following curative resection of colorectal cancer Br J Surg 2003; 90: 215-219
153. Crumley ABC, McMillan DC, McKernan M, et al.: An elevated C-reactive protein concentration, prior to surgery, predicts poor cancer-specific survival in patients undergoing resection for gastro-oesophageal cancer. *Br J Cancer* 2006;94: 1568–1571

154. Jamieson NB, Glen P, McMillan DC, et. al.: Systemic inflammatory response predicts outcome in patients undergoing resection for ductal adenocarcinoma head of pancreas. Br J Cancer 2005; 92: 21-23
155. Olive C, Cheung C, Nicol D, et al.: Expression of Cytokine mRNA Transcript in Ranal Cell Carcinoma. Immunol. Cell Biology 1998;76: 357-62
156. Knoefel B, Nuske K, Steiner T, et al.: Renal cell carcinomas produce interleukin – 6, interleukin – 10, interleukin – 11, Tumor Growth Factor-beta 1 in primary cultures and modulate T lymphocyte blast transformation. J. Interferon Cytokine Res. 1997; 17: 95-100
157. Konig B, Steinbach F, Janocha B, et al.: The differential expression of proinflammatory cytokines: interleukin – 6, interleukin – 8 and tumor necrosis factor – alfa in renal cell carcinoma. Anticancer res. 1999; 19: 95-102
158. Koo AS, Armstrong C, Bochner B, et al.: Interleukin – 6 and renal cancer: production, regulation and growth effects. Cancer Immunol. Immunother. 1992; 35: 97-105
159. Trikha M, Corringham R, Klein B, et al.: Targeted anti-interleukin-6 monoclonal antibody therapy for cancer: a review of the rationale and clinical evidence. Clin Cancer Res. 2003;9:4653–4665
160. Miki S, Iwano M, Miki Y, et. al.: Interleukin -6 - functions as an In vitro autocrine growth factor in renal cell carcinomas. FEBS Lett 1989; 250: 607-610
161. Takenawa J, Kaneko Y, Fukumato M. et al.: Enhanced expression of interleukin-6 in primary human renal cell carcinoma. J Natl Cancer Inst 1991; 83: 1668-1672
162. Blay JY, Negrier S, Combaret V.: Serum level of interleukin 6 as a prognostic factor In metastatic renal cell carcinoma. Cancer Res 1992; 52: 3317-3322
163. Hamao T, Kanayama H, Kan M, et. al.: Serum level and gene expression of interleukin – 6 and tumor necrosis factor – alpha in human renal cell carcinoma. Nippon Hinyoukika Gakkai Zasshi 1994; 85: 563-570
164. Tsukamoto T, Kumamoto Y, Miyao N et al. Interleukin-6 in renal cell carcinoma. J Urol 1992, 148, 1778-1782

165. Yoshida N., Ikemoto S., Narita K. et al.: Interleukin 6, tumour necrosis factor α and interleukin -1β in patients with renal cell carcinoma. Br J Cancer 2002, 86, 1396-1400
166. Dosquet C, Scheatz A, Faucher C, et. al.: Tumor necrosis factor – α, interleukin- 1-β and interleukin – 6 in patients with renal cell carcinoma. Eur J Cancer 1994, 31A, 162-167
167. Johnson TV, Abbasi A, Owen-Smith A, et. al.: Postoperative better then preoperative C-reative protein AT predicting outcome after potentially curative nephrectomy for renal cell carcinoma J Urol 2010;183: 480-485
168. Kamemoto H.: Significance of plasma interleukin-6 in the diagnosis of renal cell carcinoma. Hinyokika Kiyo 1993; 39: 301-306
169. Ito K, Yashii H, Asakuma J, et. al.: Clinical Impact of presence of the worst nucleolar grede In renal cell carcinoma specimens. Jpn J Clin Oncol 2009; 39 (9): 588-594
170. Komai Y, Saito K, Sakai K, et al.: Increased preoperative serum C-reactive protein level predicts a poor prognosis in patients with localized renal cell carcinoma. BJU Int. 2007 Jan;99(1):77-80
171. Mugiya S, Ozono S, Nagata M, et. al.: Investigation of preoperative serum C-reactive protein level on the prognostic for patients with localized renal cell carcinoma. J Urol 2009; 181: 353-354
172. Magera JS, Bradley JrC, Leybovich BC, et al.: Association of abnormal preoperative laboratory values with survival after radical nephrectomy for Clinically Confined clear cell renal cell carcinoma. Urology 2008; 71: 278-282
173. Gold PJ, Fefer A, Thompson JA,: Paraneoplastic manifestations of renal cell carcinoma. Semin Urol Oncol 1996; 14: 216-222
174. Pantuck AJ, Zeng G, Belldegrun AS, et. al.: Pathobiology, prognosis, and tergeted therapy for renal cell carcinoma: exploiting the hypoxia-induced pathway. Clin Cancer Res 2003; 9: 4641-4652
175. Spivak JL: The anemia of cancer: Heath by a thousand cuts. Nat Rev Cancer 2005;5:543-555
176. Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG, et al.: Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. J Urol. 2003 Nov;170(5): 1742-6

177. Nacey JN, Delahunt B.: Renal cell carcinoma: I Clinical indicators of prognosis. N Z Med J 1986; 99: 531-533
178. Sene A, Hunt L, McMahon RF. et al.: Renal carcinoma in patients undergoing nephrectomy : analysis of survival and prognostic factors. Br J Urol 1992; 70: 125-134
179. Griesshammer M, Bangerter M, Sauer T, et. al.: Aetiology and clinical significance of thrombocytosis: analysis of 732 patients with an eleveted platelet Mount. J Inter Med. 1999; 245: 295-300
180. Hernandez E, Lavine M, Dunton CJ, et.al.: Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with cervical cancer.Cancer 1992; 69: 2975-2977
181. Pedersen LM, Milman N.: Prognostic significance of thrombocytosis In patients with primary lung cancer. J Eur Respir 1996; 9: 1826-1830
182. Zeimat AG, Marth C, Mueller-Holzner E. et al.: Significance of thrombocytosis patients with epithelial ovarian cancer. Am J Obstet Gynecol 1994;170: 549-554
183. Gogus C, Baltaci S, Filiz E, et al.: Significance of thrombocytosis for determining prognosis In patients with localized renal cell carcinoma. J Urol 2004; 3: 447-450
184. Inoue K, Kohashikawa K, Suzuki S,: Prognostic significance of thrombocytosis in renal cell carcinoma patients. Inter J Urol 2004; 11: 364-367
185. Sasaki Y, Takahashi T, Miyazaki H. et al.: Production of thrombopoietin by Human carcinoma and its novel isoforms. Blood 1990; 94: 1952-60
186. Gastil G, Plante M, Finstad CL, et al.: High IL-6 levels In ascitic fluid correlate with reactive thrombocytosis In patients with epithelial ovaria cancer. Br J Haematol. 1993; 83: 433-41
187. Hollen CW, Henthorn J, Koziol JA, et. al.: Elevated serum interleukin – 6 levels in patients with reactive thrombocytosis. Br J Haematol 1991; 79: 286-90
188. O'Keefe SC, Marshall FF, Issa MM, et. al.: Thrombocytosis is associated with significant increase In the cancer specific Heath rate after radical nephrectomy. J Urol 2002; 168: 1378-80

189. Ito K, Asano T, Yoshii H, et al.: Impact of thrombocytosis and c-reactive protein elevation on the prognosis for patients with renal cell carcinoma. Int. J. Urol. 2006;10: 1442-1444
190. Biboli E, Talamini R, Zuchetto A, et. al.: Macronutrients, fatty AIDS, cholesterol and renal cell cancer risk. Int J Cancer 2008; 122: 2586-2589
191. Drabkin HA, Gemmill RM,: Obesity, cholesterol, and clear-cell renal cell carcinoma (RCC). Adv Cancer Res 2010, 107, 39-56
192. Richardson DR., Ponka P.: The molecular mechanisms of the metabolizm and transport of iron in normal and neoplastic cells. Biochim Biophys Acta,1997; 1331(1):1-40
193. Citterio G, Bertuzzi A, Tresoldi M, et. al.: Prognostic factors for survival in metastatic renal cell carcinoma: retrospective analysis from 109 consecutive patients. Eur Urol 1997, 31(3), 286-91